

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA
DENTOBACTERIANA CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA**

POR

CLAUDIA ALEJANDRA ESPINOZA LUQUE

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE
PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

DICIEMBRE, 2019

**PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA DENTOBACTERIANA
CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA**

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ DE TESIS

Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez
Director de Tesis

Dra. Gloria Martínez Sandoval
Co-Directora de Tesis

Dr. Omar Elizondo Cantú
Asesor de Tesis

Dr. Gustavo Israel Martínez González
Asesor de Estadístico

**PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA DENTOBACTERIANA
CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA**

APROBACIÓN DE TESIS

COMITÉ ACADÉMICO DE MAESTRÍA

Presidente

Secretario

Vocal

PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA DENTOBACTERIANA CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA

El presente estudio se llevó a cabo en el Posgrado de Periodoncia e Implantología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de de Nuevo León, en colaboración con el Laboratorio de Nanotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección de la Dra. Gloria Martínez Sandoval y el Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez.

DEDICATORIA

Padres, plasmo en algo físico mi agradecimiento hacia ustedes por apoyarme a lo largo de mis sueños y culminarlos de la mejor manera posible, con ustedes a mi lado. No hay palabras suficientes para poder agradecerles todo lo que han estado haciendo por mí durante estos años.

Marco, gracias por escucharme una y otra vez, con la misma historia, te dedico de igual manera, mi esfuerzo de estos años y te agradezco infinito tu apoyo en estos tres años, ahora viene la siguiente etapa en nuestros planes. Gracias Amor.

Gordo, mi compañero de departamento, gracias por todo tu apoyo.

Arturo, gracias por tus consejos, que a través de tu experiencia me has podido guiar, y apoyando aún estando lejos.

Gracias infinitas a todos ustedes, me ayudaron a inspirarme cada día a ser una mejor versión de mí profesionalmente.

Claudia A. Espinoza Luque

AGRADECIMIENTOS

Quiero a agradecer a:

Dios, por guiar mi camino en cada momento e iluminarme, nunca dejarme sola.

Dr. Sergio Galindo, por depositar la confianza, de llevar a cabo este proyecto de investigación, a pesar de las dificultades pudimos sobrellevar el estudio, gracias por ser un gran profesor y guiarme a través del estudio con su valioso tiempo, esfuerzo y más que nada su experiencia. Se lo agradezco y dedicó el esfuerzo que tomó este estudio.

A mis asesores **Dra. Gloria Martinez, Dr. Omar Elizondo** les agradezco por el apoyo durante el proceso del estudio.

Dr. Gustavo, por su gran apoyo en el desarrollo de la parte estadística.

Dr. Ruben Lozano, además de ser mi profesor un grande amigo, gracias por todo su apoyo y consejos, durante el proyecto de investigación.

Dr. Jesus Israel Rodríguez Pulido, por apoyarme a llevar a cabo este proyecto

Xiao Yee, por apoyarme en la parte microbiológica de ésta investigación.

Mis profesores, a cada uno de ustedes, les digo que me los llevo en mi corazón, gracias por cada una de sus enseñanzas tanto profesionalmente como personalmente. Admiro, el hecho que siempre estan dispuestos a compartir su experiencia profesional y guiarme a través de su conocimiento. Son una inspiración para mí.

Al personal de ayuda, gracias por siempre dar la mejor versión de ustedes, y hacer su trabajo de la manera más altruista posible.

Mis pacientes, su confianza depositada en mi y compromiso con su tratamiento, lo cual me ayuda a realizarme como Profesionista, día a día.

Mis compañeros: generación 41, generación 43, y generación 44 y mi generación Isa, Marce, May, Norma, y Elí, sin cada una de ustedes no hubiera sido lo que fué nuestro Postgrado. Gracias por su apoyo a todos, sin ustedes, no hubiera sido posible llevar a cabo mi investigación, por las múltiples veces que les pedí que no se lavaran los dientes.

A **todos ustedes**, hace 3 años entre siendo una persona, y ahora salgo siendo de manera positiva otra persona que culmina uno de sus más grandes objetivos.

A **CONACYT**, por la beca otorgada número 49082.

Claudia A. Espinoza Luque

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	x
NOMENCLATURA	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	2
3. OBJETIVOS	
3.1 Objetivo general	3
3.2 Objetivos específicos	3
4. ANTECEDENTES	
4.1 Enfermedad Periodontal	4
4.1.1 Etiología y Patogénesis	5
4.2 Biopelícula.	6
4.2.1 Estructura de la biopelícula oral	6
4.2.2 Coagregación bacteriana en biopelícula oral	8
4.2.3 Tratamiento de la biopelícula periodontal	9
4.3 Clorhexidina	11
4.3.1 Modo de Acción	12
4.3.2 Indicaciones o Usos	13
4.3.3 Limitaciones	13
4.3.4 Efectos Secundarios	14
4.4 Nanotecnología: Nanomedicina y Nanodontología	14
4.4.1 Administración local de nanopartículas y periodoncia	16
4.4.2 Nanopartículas Poliméricas	17
4.5 Nanopartículas como sistemas de administración de fármacos	19

5.	MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1	Diseño del Estudio	20
5.2	Universo de Estudio	20
5.3	Tamaño de Muestra	20
5.4	Criterios de Selección y Exclusión	21
5.5	Descripción de procedimientos	21
5.5.1	Fase diagnóstica	21
5.5.2	Historia médica	22
5.5.3	Evaluación periodontal	22
5.5.3.1	Índice de placa	22
5.5.3.2	Índice gingival	23
5.5.3.3	Muestra de Placa Dentobacteriana	25
5.5.4	Tratamientos	26
5.6	Diagrama de flujo	26
5.7	Consideraciones éticas	27
6.	RESULTADOS	27
7.	DISCUSIÓN	34
8.	CONCLUSIÓN	37
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
10.	RESUMEN BIOGRÁFICO	43
11.	ANEXOS	44
I.	Forma selección inicial	45
II.	Hoja de consentimiento informado	46
III.	Forma de consentimiento informado	47
IV.	Historia clínica	48
V.	Índice de Placa Turesky-Gilmore-Glickman	54
VI.	Índice Gingival de Löe y Silness	55
VII.	Índice de Placa O’Leary	56
VIII.	Formato de Índice de Placa	57
IX.	Formato de Índice Inflamación Löe Silness	58

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Representación esquemática de formación inicial de placa. (Newman, Takei, Klokkevold, Carranza, 2019).	7
2. Distintas aplicaciones de las nanopartículas en la odontología.(S. Priyadarsini et al.,2018).	15
3. Índice de Turesky por tipo de polímero y tiempo de evaluación.	29
4. Índice de O'Leary por tipo de polímero y tiempo de evaluación.	29
5. Formación de placa a las 4 h después de aplicar el tratamiento con nanopartículas de polímero RL con CHX A) Agua, B) CHX libre, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL.	30
6. Formación de placa a las 24 h después de aplicar el tratamiento con nanopartículas de polímero EPO con CHX. A) Agua, B) CHX libre, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL.	30
7. Formación de placa correspondiente a 4 h grupo RL100. A) Agua, B) CHX Np, C) CHX libre, D) NpCHX-EPO.	31
8. Formación de placa correspondiente a 24 h grupo EPO A) Agua, B) CHX libre C) NpCHX-EPO, C) CHX libre, D) NpCHX-EPO.	31
9. Conteo de UFC de muestras microbiológicas tomadas de la superficie dental vestibular de dientes 1.6 y 1.7 después de 4 h de aplicación de tratamiento de clorhexidina incorporada en NP de polímero RL.	32
10. Cultivos correspondientes a muestras tomadas en el periodo correspondiente a 4h.	33
11. Cultivos correspondientes a muestras tomadas en el periodo correspondiente a 24h.	33

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I.	Nanopartículas poliméricas como sistema de administración de fármacos para el tratamiento de periodontitis	18
II.	Parámetros para evaluar el índice de placa de Turesky-Gilmore-Glickman	22
III.	Parámetros para evaluar el intervalo del índice de placa de Löe y Silness	24
IV.	Parámetros para evaluar el intervalo del índice gingival de Löe y Silness	24
V.	Descripción de Tratamientos Utilizados	26

NOMENCLATURA

CHX	Clorhexidina
NPPs	Nanopartículas Poliméricas
NP	Nanopartículas
CFU	Conteo de unidades formadoras de colonias
NpCHX-RL	Nanopartículas con CHX polímero RL
Npb-RL	Nanopartículas blanco polímero RL
NpCHX-EPO	Nanopartículas con CHX polímero EPO
Npb-EPO	Nanopartículas blanco polímero EPO

RESUMEN

Introducción: La naturaleza del biofilm mejora la resistencia de las bacterias tanto a los componentes del sistema de defensa del huésped como a los antimicrobianos. Si no se elimina regularmente, la biopelícula se somete a la maduración, lo que resulta en caries dental, gingivitis y periodontitis. El control de la acumulación del biofilm, forma parte importante en la prevención de la enfermedad periodontal, su tratamiento consiste en métodos físicos y químicos con finalidad de mantener a un mínimo la presencia de placa dentobacteriana. **Objetivo:** Evaluar la eficacia de las formulaciones de CHX en solución y CHX encapsulada en nanopartículas poliméricas como agentes anti-placa, mediante la evaluación clínica y, microbiológica. **Materiales y métodos:** Se incluyó un total de 12 pacientes en un rango de edad entre 23 y 28 años, los cuales cumplían con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. La población del estudio se dividió en 6 grupos: A) Agua, B) CHX encapsulada, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL, E) NpCHX-EPO, F) NpCHX-EPO. Y evaluación del crecimiento de placa mediante el Índice de placa (Turesky-Gilmore-Glickman y O'Leary) y el Índice gingival (Löe y Silness) a las 0, 4 y 24 h, y recolección de muestras de placa supragingival de las superficies bucales de los dientes 1.6 2.6 a las 4 y 24 h para el estudio microbiológico (CFU). **Resultados:** Se realizaron mediciones del índice de Turesky y de O'Leary a las 0, 4, y 24 h, para analizar la formación de placa dentobacteriana. Los resultados se muestran en las Figuras 3 y 4 respectivamente. Además, en las Figuras 5 y 7 se presentan fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 4 h para los tratamientos con los dos tipos de nanopartículas (i.e. polímero RL y polímero EPO) con clorhexidina. La Figura 6 corresponde fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 24 h del tratamiento con las nanopartículas de polímero EPO con clorhexidina. Y La figura 8 corresponde fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 24 h del tratamiento con las nanopartículas de polímero RL con clorhexidina. **Conclusión:** La CHX se formuló en dos tipos de nanopartículas, preparadas con dos polímeros distintitos, Eudragit EPO y Eudragit RL, y se comparó clínicamente con el efecto de la CHX no nanoencapsulada (i.e. CHX libre). Los resultados mostraron que las formulaciones de nanopartículas con CHX presentaron menores IP que la CHX no nanoencapsulada los cuales se confirmaron con estudios microbiológicos de CFU. Por lo tanto, se puede concluir que la aplicación de formulaciones de CHX nanoencapsulada puede prolongar la actividad antiséptica del fármaco.

ABSTRACT

Introduction: The nature of biofilm improves the resistance of bacteria to both the components of the host defense system and to antimicrobials. If not removed regularly, the biofilm undergoes maturation, resulting in tooth decay, gingivitis and periodontitis. The control of biofilm accumulation is an important part in the prevention of periodontal disease, its treatment consists of physical and chemical methods in order to keep the presence of dentobacterial plaque to a minimum.

Objective: Evaluate the effectiveness of the formulations of CHX in solution and CHX encapsulated in polymeric nanoparticles as anti-plaque agents, through clinical, and microbiological

Materials and methods: A total of 12 patients were included in an age range between 23 and 28 years, which met the established inclusion and exclusion criteria. The study population was divided into 6 groups: A) Water, B) Encapsulated CHX, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL, E) NpCHX-EPO, F) NpCHX-EPO. And evaluation of plaque growth using the Plaque Index (Turesky-Gilmore-Glickman and O'Leary) and the Gingival Index (Löe and Silness) at 0, 4 and 24 h, and collection of supragingival plaque samples from surfaces buccal teeth 1.6 2.6 at 4 and 24 h for microbiological study (CFU). **Results:** Turesky and O'Leary index measurements were made at 0, 4, and 24 h, to analyze dentobacterial plaque formation. The results are shown in Figures 3 and 4 respectively. In addition, Figures 5 and 7 present photographs with clinical images taken at 4 h for treatments with the two types of nanoparticles (i.e. RL polymer and EPO polymer) with chlorhexidine. Figure 6 corresponds to photographs with clinical images taken 24 hours after treatment with the nanoparticles of EPO polymer with chlorhexidine. And Figure 8 corresponds photographs with clinical images taken 24 hours after treatment with the RL polymer nanoparticles with chlorhexidine **Conclusions:** CHX was formulated in two types of nanoparticles, prepared with two distinct polymers, Eudragit EPO and Eudragit RL, and clinically compared with the effect of non-nanoencapsulated CHX (i.e. free CHX). The results showed that CHX nanoparticle formulations had lower IP than non-nanoencapsulated CHX, which were confirmed with CFU microbiological studies. Therefore, it can be concluded that the application of nanoencapsulated CHX formulations can prolong the antiseptic activity of the drug.

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la poca sustentividad de los fármacos en la cavidad oral, la cual restringe su actividad farmacológica, sería ideal contar con una forma farmacéutica de administración que aumente su residencia y mejore su efecto biológico. En los últimos años, se ha implementado el uso de nanopartículas poliméricas como acarreadores de fármacos debido a que, por sus características, pueden interactuar óptimamente con sustratos biológicos (e.g. células o tejidos) y liberar controladamente al fármaco que transportan. Estas propiedades en conjunto podrían contribuir a que fármacos aplicados localmente en la cavidad oral mejoren su sustentividad y su efecto biológico. En el presente trabajo se incorporó clorhexidina en nanopartículas poliméricas para su aplicación en la cavidad oral, con el fin de mejorar su actividad antiplaca. Específicamente esta investigación se orientó a evaluar la actividad de la clorhexidina incorporada en nanopartículas poliméricas, por medio de la evaluación del crecimiento de placa mediante el uso del Índice de placa (Turesky-Gilmore-Glickman y O'Leary) y el Índice gingival (Löe y Silness) a las 0, 4 y 24 h; así mismo, se realizó la recolección de muestra de placa supragingival de las superficies bucales de los dientes 1.6 y 2.6 a las 4 y 24 h para el estudio microbiológico, con el fin de establecer la cantidad de unidades formadoras de colonias. Los resultados en conjunto permitieron analizar y comparar la capacidad de la clorhexidina nanoencapsulada para prevenir la formación de placa dentobacteriana.

2. HIPÓTESIS

Si el uso de nanopartículas poliméricas como forma de administración local mejora el potencial de clorhexidina, comparado con la clorhexidina no encapsulada en pacientes sanos en un periodo de 24 horas, entonces su efecto antiplaca se controlará adecuadamente durante este periodo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la eficacia como agente antiplaca de las formulaciones de clorhexidina incorporada en nanopartículas poliméricas, mediante evaluaciones clínicas y microbiológicas.

3.2 Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto antiplaca de las formulaciones de nanopartículas incorporadas con CHX por medio de índice de placa e índice gingival.
2. Determinar la actividad antimicrobiana de la CHX incorporada con NP con respecto a la CHX no encapsulada por medio de un estudio de conteo microbiano (UFC).

4. ANTECEDENTES

4.1 Enfermedad Periodontal

La nueva clasificación de la enfermedad periodontal se realiza según lo establecido en el taller mundial de la EFP (Federación Europea de Periodoncia) y la AAP (Asociación Americana de Periodoncia) del 2017. La clasificación toma un enfoque por etapas, como es utilizado normalmente en oncología para describir la gravedad de la enfermedad, y en grados, para describir la progresión de la enfermedad y la manera en que responde cada paciente dependiendo de su estado de salud general o sistémico. Este sistema de clasificación tiene el propósito de facilitar y estandarizar el diagnóstico y optimizar el tratamiento (Papapanou, 2018).

La periodontitis se divide en cuatro etapas:

- La Etapa I es la enfermedad incipiente, representada por los signos tempranos de la pérdida de inserción.
- La Etapa II es aquella que se consideraba anteriormente como leve o moderada, cuyo tratamiento puede ser llevado a cabo relativamente fácil, aplicando los principios del tratamiento común.
- La Etapa III es aquella en donde se ha producido una pérdida significativa del aparato de inserción y, si continúa sin tratamiento, puede llegar a la pérdida piezas dentales.
- La Etapa IV es la que se consideraba anteriormente como avanzada, debido a la gran cantidad de pérdida de inserción y de piezas dentales, y por ende de la función masticatoria.

Los grados de la periodontitis se dividen en tres: i) grado A con una progresión lenta, ii) grado B con una progresión moderada y iii) grado C con una rápida progresión.

4.1.1 Etiología y Patogénesis

Las características de lesiones por enfermedad gingival y periodontal son el resultado de respuestas inflamatorias que involucran respuestas innatas y adaptativas del sistema inmune, e inducidas en un principio por la formación de la biopelícula oral. La inflamación que persiste, limitada a la encía, es el resultado de un balance en simbiosis, mientras que la periodontitis es el resultado de una falla en esta simbiosis biopelícula-huésped. Las formas más comunes de enfermedad periodontal son meramente análogas de diferentes rutas patogénicas, iniciadas por productos de la biopelícula, de las cuales algunas conducen a la destrucción del tejido en huéspedes susceptibles (Kornman KS, 2008).

Básicamente, la biopelícula de la placa dental está en constante interacción con los sustratos subyacentes (i.e. superficie del diente, epitelio de unión, epitelio gingival, y bolsa del epitelio) y recibe sus nutrientes de la saliva, líquido crevicular, debris celular y comida. La biopelícula no solo afecta al huésped, sino que las respuestas del huésped influyen de manera similar en el metabolismo y composición de la biopelícula. En una persona sana, la defensa del huésped y la biopelícula coexisten en un estado simbiótico de beneficio mutuo (Marsh PD *et al.*, 2008).

Diversas bacterias son liberadas continuamente de la biopelícula dental, y la mayoría son eliminadas antes de que puedan iniciar una respuesta en el huésped. En sujetos con tejidos periodontales clínicamente sanos no se logra observar una invasión bacteriana significativa. Hay varios mecanismos fisiológicos encargados de mantener la integridad de los tejidos. Los productos bacterianos son arrastrados por el continuo flujo salival, el líquido crevicular que drena al surco gingival, y el epitelio de unión y el epitelio que eliminan la carga bacteriana de las células superficiales (Rosan y Lamont, 2000). Cuando los microorganismos patógenos logran atravesar todos estos mecanismos de defensa se da lugar a la manifestación de una inflamación que es destructiva; en este puente se desencadenan fenómenos que llevan hacia la reabsorción del hueso alveolar, secuela característica de la enfermedad periodontal avanzada. Dentro de los factores de riesgo principales se encuentran, obesidad, tabaquismo, factores genéticos, diabetes, embarazo, medicación, nutrición y el factor microbiológico; este último es el principal causante de la respuesta inflamatoria de los tejidos blandos.

Los microorganismos presentes en la placa dental sobreviven en forma altamente organizada de biopelículas. Estos agentes son la etiología primaria de la enfermedad periodontal (Dentino A *et al.*, 2013).

4.2 Biopelícula

El término biopelícula fue introducido en 1982 por Costerton, después de observar que *Staphylococcus aureus* había formado una biopelícula en un marcapasos cardíaco. La formación de la biopelícula representa un modo de crecimiento protegido, el cual permite que las células bacterianas sean menos susceptibles a los antimicrobianos y mueran por los mecanismos efectores inmunes del huésped. Esto permite que los patógenos sobrevivan en ambientes hostiles y colonicen nuevos nichos. Las biopelículas bacterianas poseen características que las hacen difíciles de erradicar y son mucho más resistentes a los antibióticos que la bacteria plactónica (Del Pozo JL, 2018). Estas comunidades de microorganismos se encuentran embebidas en una sustancia polimérica extracelular, que al momento de estar en contacto con el huésped puede afectar la homeostasis en los tejidos y desencadenar una enfermedad. Hay datos que establecen que más del 80% de los microbiomas se encuentran en una estructura de biopelícula y que las biopelículas bacterianas causan más del 75% de todas las infecciones microbianas encontradas en humanos. La cavidad oral se encuentra repleta de biopelículas colonizadoras, tanto en membranas mucosas y materiales dentales, como en dientes (Beikler T *et al.*, 2011).

La biopelícula oral está altamente asociada con la etiología de enfermedades periodontales, caries dental, enfermedades pulpares, periodontitis apical, peri-implantitis y candidiasis. La enfermedad periodontal se caracteriza por ser una enfermedad de destrucción progresiva, la cual se desencadena por la presencia de patógenos periodontales que colonizan la superficie del diente a nivel o por debajo del margen gingival (Teles RP *et al.*, 2009).

4.2.1 Estructura de la biopelícula oral

Las biopelículas están compuestas por microcolonias de células bacterianas (15-20 % de volumen), las cuales se van a encontrar distribuidas en una forma de matriz o de glucocalix (75-80 % de volumen). Estas microcolonias tienen canales de agua

superficie depende de varios factores: i) los asociados a las bacterias, como el tipo de bacterias, el estado de crecimiento, y el tipo y la carga de moléculas que se encuentran en la superficie; ii) los asociados al sustrato, como sus características químicas y físicas (Mombelli A, 2018); y iii) las condiciones ambientales como pH, temperatura, flujo de fluido, y disponibilidad de nutrientes.

4.2.2 Coagregación bacteriana en la biopelícula oral

Todas las biopelículas constan de tres componentes: la necesidad de una superficie para la adherencia de la biopelícula, la comunidad de la biopelícula y el caudal de fluido que pasa sobre la biopelícula; este último proporciona nutrientes para los microorganismos colonizadores, elimina los productos metabólicos de desecho y transporta las células a nuevas zonas de colonización. Cada uno de estos componentes, puede ser alterado por factores locales del individuo, que pueden influir sobre la composición microbiana de la biopelícula colonizadora (e.g. higiene bucal). El huésped puede influir sobre la microbiota, pero, a su vez, la microbiota influye sobre el huésped, localmente y, quizás de un modo sistémico. La colonización bacteriana provoca una respuesta inflamatoria local (Socransky & Haffajee, 2006).

La colonización microbiana comienza con el aumento de cantidad de colonizadores tempranos de la biopelícula de la placa subgingival, que son especies de *Actinomyces* y *Streptococci*. A los pocos días comienza a desarrollarse en el espacio subgingival una comunidad microbiana compleja, caracterizada por la presencia de colonizadores secundarios, una especie de microorganismos con un perfil patógeno más alto, como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Con frecuencia estos colonizadores expresan numerosas adhesiones que permiten la unión de habitantes bacterianos de la región; usualmente, estas uniones se dan entre patógenos que son metabólicamente compatibles. Así mismo, algunos colonizadores secundarios se pueden unir tanto a colonizadores primarios, o a otros colonizadores tardíos, creando un consorcio polimicrobiano.

4.2.3 Tratamiento de la biopelícula periodontal

Varios estudios han demostrado que la acumulación de placa dentobacteriana en encía sana produce gingivitis, y que después de una re-institución de medidas de higiene oral, el tejido gingival vuelve a su estado sano (Loe H *et al.*, 1965). La periodontitis y la gingivitis son causadas por microorganismos que colonizan los dientes y la encía, por esta razón se necesita un control óptimo de placa supragingival y subgingival como requisito para la salud periodontal. En el taller Europeo de Periodontología con respecto al control mecánico de placa (European Workshop on Mechanical Plaque Control), se declaró que la placa dental es la causa directa de gingivitis y periodontitis, y a través de distintas investigaciones y ensayos clínicos se había demostrado que, en diferentes áreas geográficas y niveles sociales, la remoción efectiva de placa dental es esencial para la salud dental y periodontal a través de la vida (Baehni PC *et al.*, 2003).

La biopelícula que coloniza la superficie del diente y los tejidos blandos orales es compleja y las bacterias residentes mantienen interacciones complementarias entre las superficies que van colonizando. Otra complicación para el control de esta película es la capacidad que tienen los microorganismos para multiplicarse y unirse a nuevas superficies del huésped o a organismos que ya estaban previamente unidos al huésped. Por lo tanto, la diseminación y la recolonización son cuestiones que se tienen que considerar para limitar este continuo crecimiento patológico. Los tratamientos periodontales tienen como objetivo detener la progresión de las enfermedades periodontales y mantener al periodonto en un estado sano. Las terapias periodontales antimicrobianas se pueden agrupar en tres amplias categorías:

1. Eliminación física de microorganismos (desbridamiento mecánico).
2. Aquellas que interrumpen o afectan el metabolismo de los microorganismos (antibióticos, antisépticos).
3. Aquellas que afectan el medio ambiente microbiano (e.g. vacunas contra patógenos orales, introducción de alguna especie a la biopelícula para alterar el potencial patógeno) (Baehni PC *et al.*, 2003).

El desbridamiento mecánico es la remoción de la biopelícula bacteriana por medios físicos. Básicamente, se lleva a cabo la eliminación de placa supragingival y subgingival por procedimientos como la limpieza oral personal por medio del

cepillado mecánico, o con instrumentos usados por profesionales en el área, ya sean raspadores o ultrasonido, raspado y alisado radicular, o cirugía periodontal. Es la clave para la prevención de la enfermedad periodontal y el primer paso para el tratamiento de este padecimiento, en conjunto con el control químico de la misma (Cobb, 2002).

Aunque el cepillado dental se lleve a cabo de la manera más óptima, ya sea utilizando un cepillo manual, o eléctrico, no logra dejar limpias la superficie mesial y distal del diente. Entre los dispositivos para lograr una limpieza interdental se encuentran, hilo dental, cepillos interdentes, dispositivos para irrigación subgingival en casa (Waterpik®), entre otros. La mayoría de estos dispositivos no son fáciles de usar, se necesita de buena destreza y de instrucciones y motivación previas para llevar a cabo su función ideal, para que se integre como parte de la rutina diaria de higiene oral (Löe H, 2000).

Dentro de sus limitaciones, se encuentra que a pesar de que existen varias presentaciones de cepillos y técnicas de cepillado acorde a las necesidades del paciente, es muy común que no se lleve a cabo la técnica de cepillado de la manera más óptima, cepillando solo las superficies oclusales o vestibulares, y con frecuencia únicamente las superficies vestibulares de dientes anteriores. En ocasiones la limpieza dental con cepillo dental y dentífrico puede causar abrasión del esmalte, y puede provocar daño a los tejidos gingivales. La configuración de cerdas y tipo de cerdas, método de cepillado y presión de cepillado, así como la abrasividad del dentífrico tienen que ser variables consideradas que pueden afectar al diente y la abrasión gingival (Serrano J *et al.*, 2015).

Por otro lado, se tiene como opción el tratamiento con antibióticos. Las enfermedades periodontales son infecciones, y por ello se considera la implementación e indicación de antibiótico en su tratamiento. En particular, no debe sorprender el aumento a la resistencia bacteriana que ocurre por parte de los organismos que crecen en biopelículas. De hecho, muchos antibióticos presentan dificultad para penetrar estas redes altamente organizadas de microorganismos patógenos. A pesar de esto el antibiótico ha sido exitosamente empleado como adyuvante en el tratamiento de enfermedad periodontal. Aunque los antibióticos administrados sistémicamente tienen ciertos efectos sobre algunos patógenos de la

microbiota subgingival, generalmente no eliminan completamente las especies bacterianas poco sensibles (Jepsen K *et al.*, 2016).

Los agentes antiplaca se definen como productos químicos que tienen un efecto sobre la placa suficiente para beneficiar el desarrollo de la gingivitis. Conceptualmente, los agentes antiplaca podrían usarse: i) interferir con la adhesión de las bacterias orales a las superficies y prevenir la formación de biopelículas, ii) interferir con los mecanismos de agregación conjunta o para afectar la vitalidad bacteriana, lo que impide un mayor crecimiento de colonias, o iii) eliminar o alterar las biopelículas existentes. El uso a largo plazo de productos químicos favorece la elección de agentes con propiedades diferentes a las actividades bactericidas o bacteriostáticas, pero que pueden prevenir efectivamente la adherencia bacteriana y la colonización. El uso de tales compuestos preservaría el ambiente biológico de la cavidad oral (Baehni PC *et al.*, 2003).

4.3 Clorhexidina

La clorhexidina (CHX) es una bisguanida de amplio espectro, la cual fue primeramente introducida al campo médico en 1953 en la forma de crema antiséptica (Foulkes DM, 1973). Químicamente, la CHX es una molécula (1,6-di(4-chlorofenil-guanida) hexano) con carga positiva distribuida sobre átomos de nitrógeno en cualquier lado del puente de hexametileno (Moshrefi A, 2002). Es una base fuerte y es prácticamente insoluble en agua. En odontología se han implementado una amplia variedad de formulaciones y vehículos con este antiséptico (e.g. enjuagues, gel, spray y barniz). A través de los años, se ha reconocido a la CHX como agente principal en el control de placa químico, y por su eficiencia clínica. Así mismo, se emplea como antiséptico de elección y se denomina el “*gold standard*” para su empleo en tratamiento o prevención de enfermedad periodontal. Prácticamente, es el antimicrobiano más examinado y más efectivo de uso oral (Kornman KS, 2008). Su uso diario logra disminuir el número de bacterias en la saliva en un 30-50%, y en la placa dental un 55-97%, sin producir resistencia bacteriana o cambios significativos en la composición de la microflora.

Los enjuagues de CHX están disponibles en concentraciones de 0.1, 0.12 y 0.2 %. La dosis óptima de enjuague de CHX se considera que es 20 mg dos veces al día,

lo que equivale a un enjuague de 10 mL al 0.2 % (20 mL) o 15 mL al 0.12% (18 mg) (Keijser JAM *et al.*, 2003).

4.3.1 Modo de Acción

La clorhexidina tiene un amplio espectro de actividad contra microorganismos, abarcando bacterias gram-positivas y gram-negativas, levaduras y dermatofitos. El efecto que tiene la CHX sobre los microorganismos está altamente relacionado con la concentración del agente; mientras que a concentraciones bajas funciona efectivamente como bacteriostático, a concentraciones altas se convierte en un efeciente bactericida (Jones CG, 2002).

El modo de acción bactericida de la CHX se relaciona con su carácter catiónico. Las moléculas de CHX son atraídas a la superficie celular de la bacteria con carga negativa, principalmente interaccionan con los componentes que contienen fosfato, alterando así la integridad de la membrana celular de la bacteria. Básicamente, la CHX se une a los fosfolípidos de la membrana interna aumentando la permeabilidad de ésta, provocando la fuga de componentes de bajo peso molecular (e. g. iones potasio) (James P *et al.*, 2017).

En su actividad bacteriostática, los efectos de la CHX son reversibles, ya que la remoción del exceso de CHX por neutralizadores permiten que la bacteria se recupere, lo que implica que los daños estructurales a la membrana citoplasmática causados por bajas concentraciones de CHX son menores en comparación de niveles altos del agente, donde causaría un mayor efecto negativo.

La buena sustentividad es una característica importante de la CHX que se relaciona con su catacter catiónico. La sustentividad se refiere a la capacidad de liberarse lentamente a través del tiempop, desde la superficie del esmalte de los dientes a los que se adsorbió, proporcionando así un efecto bacteriostático prolongado *in vivo*. Es interesante hacer notar que la molécula de CHX tiene la capacidad de adsorberse a sustratos aniónicos (cargados negativamente) como la hidroxiapatita, la biopelícula, las glucoproteínas salivales y las membranas mucosas.

4.3.2 Indicaciones o Usos

- Como adjunto a la higiene oral mecánica, particularmente en la fase de higiene oral del tratamiento periodontal.
- Como prevención después de algún procedimiento de cirugía oral, incluyendo terapia periodontal.
- En pacientes con fijación intermaxilar, algunos estudios han demostrado que la CHX mejora significativamente la higiene oral y reduce la cantidad de bacteria en la saliva.
- En personas discapacitadas física o mentalmente.
- En pacientes medicamente comprometidos, que estén predispuestos a infecciones orales, en particular con candidiasis oral, porque la clorhexidina es un antiséptico, anticándida en combinación con agentes antifúngicos. Por sí sola su efecto es lento en mejorar la infección por candidiasis, pero es útil para la prevención de su recurrencia. En el manejo de estomatitis, y prevención de infecciones orales y sistémicas en personas inmunocomprometidas, como en discrasias sanguíneas, pacientes que reciben radioterapia, quimioterapia, o trasplante de médula ósea.
- En pacientes con alto riesgo a caries.
- En pacientes que padecen de ulceración aftosa menor recurrente, ya que este padecimiento se extiende debido a la contaminación bacteriana, la CHX se puede usar para el manejo de esta condición.
- En pacientes con ortodoncia, para el manejo del deterioro de la práctica de higiene oral, y ulceración oral traumática.
- En procedimientos de implantes, para disminuir el número de patógenos presentes en el periodo post-operatorio.
- En pacientes geriátricos y en pacientes terminales.
- En pacientes susceptibles a una endocarditis bacteriana durante algún procedimiento dental, ya que disminuye la cantidad de bacterias en el área haciendo un enjuague con colutorio de CHX antes de la manipulación dental (Addy M *et al.*, 1997).

4.3.3 Limitaciones

En ocasiones se pueden encontrar dificultades en presentaciones de la CHX, como en pastas dentales o geles, ya que la CHX se puede unir a otros ingredientes de

estos productos reduciendo su efectividad (James P, *et al* 2017). Así mismo, la actividad antimicrobiana se reduce en la presencia de cera, plasma, pus u otros materiales orgánicos como surfactantes o polielectrolitos aniónicos. También se ha documentado que ciertas bacterias gram-negativas aisladas son capaces de crecer en la presencia de CHX al 1 %, dado que la efectividad de su actividad es dependiente de su concentración.

4.3.4 Efectos Secundarios

La CHX es poco absorbida por los tejidos orales y el tracto gastrointestinal, por lo que se considera que tiene una toxicidad muy baja. Hay muy pocos reportes sobre reacciones de hipersensibilidad a la CHX utilizada en cavidad oral (Van Strydonck DAC *et al.*, 2012).

Sin embargo, la CHX presenta efectos adversos de distintos tipos, los más conocidos son la formación de manchas cafés en dientes y tejidos orales, particularmente en lengua. La pigmentación resulta de la asociación de cromógenos aniónicos de la dieta (e.g. café, té, vino) con los cationes adsorbidos de CHX. Otros efectos, aunque menos comunes, son la acumulación de cálculo, lesiones en la mucosa oral y alteración en la percepción del sabor (Santos GOD *et al.*, 2017). La presencia de estos efectos se puede ver beneficiada por concentraciones más bajas de CHX, a excepción de las manchas cafés en dientes y acumulaciones de cálculo, las cuales se deben de llevar a cabo por medio de remoción de éstas, por profesionales en el área. Estos efectos adversos hacen limitado el tiempo de indicación de uso al paciente con tiempos de corto a moderado y uso exclusivo en circunstancias clínicas específicas.

Es probable que controlando la liberación de la CHX desde su forma de dosificación sea posible evitar su asociación con los compuestos responsables de la pigmentación.

4.4 Nanotecnología: Nanomedicina y Nanodontología

La Royal Society y la Royal Academy of Engineering (2004) definieron la nanociencia como el estudio de los fenómenos y la manipulación de materiales a escalas atómica, molecular y macromolecular, donde las propiedades difieren significativamente de aquellas a mayor escala. La nanotecnología también se define

como el diseño, caracterización, producción y aplicaciones de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño a escala nanométrica (Gupta *et al.*, 2013). La nanotecnología es un campo de rápido crecimiento y su camino emergentes han llevado al origen de un campo completamente nuevo, conocido comúnmente como nanomedicina.

La nanomedicina es una nueva rama de la ciencia que involucra no solo el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades, sino también la preservación de la salud humana a través del uso de materiales nanoestructurados. Se ha aplicado a diversos campos médicos como, la oncología y la medicina cardiovascular, el descubrimiento de biomarcadores, el diagnóstico molecular, la imagenología, la tecnología de implantes, la cirugía, y la administración de fármacos/genes (Gupta *et al.*, 2013).

En particular, debido al creciente interés de la aplicación dental de la nanotecnología, ha surgido una nueva área de investigación denominada nanodontología. Las nuevas oportunidades de tratamientos nanodontológicos incluyen anestesia local, renaturalización de la dentición, cura permanente de la hipersensibilidad, realineamiento completo de la ortodoncia durante una sola visita al consultorio, esmalte diamantado covalentemente unido y mantenimiento continuo de la salud bucal (Abiodun-Solanke *et al.* 2014).

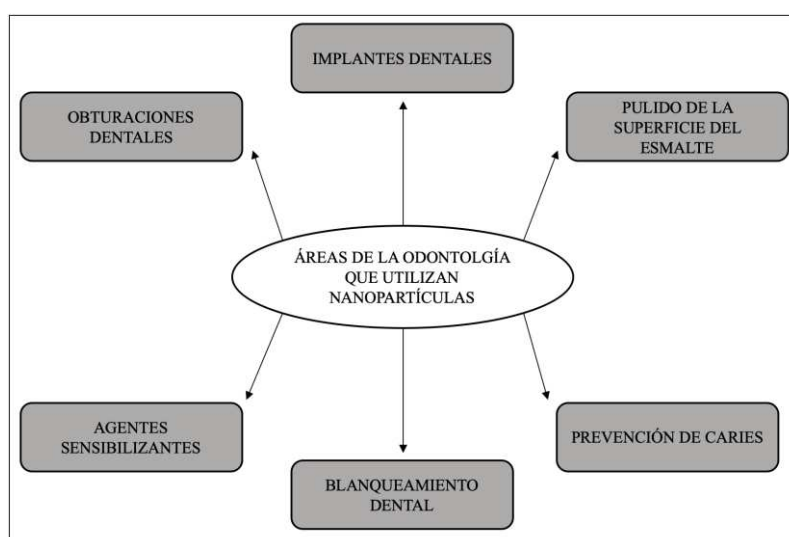


Figura 2. Distintas aplicaciones de las nanopartículas en la odontología (S. Priyadarsini *et al.*, 2018).

4.4.1 Administración local de nanopartículas y periodoncia

En el tratamiento de enfermedades periodontales, el obstáculo principal es administrar agentes terapéuticos a la bolsa periodontal (sitio blanco). La administración local de medicamentos (i.e. dispositivos de irrigación dentífricos, enjuagues bucales, geles dentales y jeringas) consiste en usar dosis más bajas, que las sistémicas, obteniendo así concentraciones más altas del medicamento específicamente en el sitio blanco y reduciendo los efectos secundarios y los efectos tóxicos. Sin embargo, la ineficiencia de enjuagues bucales y dentífricos se debe a que presentan un período limitado de contacto del medicamento dentro de los tejidos, con falta de selectividad y penetración inadecuada en la bolsa periodontal (Gupta S *et al.*, 2013).

Un sistema ideal de administración de fármacos debe ser capaz de transportar los compuestos activos al sitio de acción previsto de manera segura. Además, debe ser capaz de hacer un contacto óptimo con las superficies mucosas en el periodonto y debe mejorar el tiempo de residencia en el sitio blanco (es decir, en la bolsa periodontal). Así mismo, el sistema de administración debe fortalecer el contacto con el epitelio de unión para mejorar el transporte epitelial de fármacos ineficientemente absorbibles. Esta estrategia es la preferible para mejorar la capacidad de regeneración de los tejidos deteriorados y para tratar la enfermedad periodontal de manera eficiente (Garg *et al.*, 2018).

Se ha planteado que la administración de fármacos en nanopartículas es una alternativa prometedora para superar estos obstáculos del tratamiento periodontal. Una nanopartícula es un pequeño material rígido con un tamaño que varía de 1 nm a 600 nm. Los materiales utilizados para la producción de una nanopartícula pueden ser biodegradables, (e.g. albúmina, ácido poliláctico, gelatina, lípidos) o no biodegradables (derivados de ácido poliacrílico, metales, composites). Una característica interesante de los sistemas de liberación nanoparticulados es que pueden ser endocitados, permitiendo alcanzar concentraciones altas de fármaco al interior de la célula blanco (e.g. epitelial o bacteriana). Esto se traduce en que con la administración de menores cantidades de fármaco se pueda lograr el efecto biológico deseado (Garg *et al.*, 2018).

Adicionalmente, debido a su pequeño tamaño, las nanopartículas pueden acceder a sitios inalcanzables para otros dispositivos, como las regiones periodontales de

bolsillo debajo de la línea de las encías. Los sistemas de nanopartículas disponibles para la administración local de medicamentos utilizados para enfermedades periodontales incluyen nanopartículas poliméricas, nanofibras, liposomas, puntos cuánticos y nanocomposites / nanogeles (Garg *et al.*,2018).

4.4.2 Nanopartículas Poliméricas

Los sistemas nanoparticulados más importantes para la administración de fármacos son las nanopartículas poliméricas (NP), principalmente debido a sus propiedades de biodegradabilidad, biocompatibilidad y capacidad para liberar fármacos de forma controlada.

Las NPs son sistemas coloidales, con tamaños de 1 a 600 nm, que están formados de materiales macromoleculares biodegradables o no biodegradables. Según su estructura, las NP pueden ser nanoesferas o nanocápsulas. Las nanoesferas son sistemas de tipo matricial y en este caso el fármaco puede ser absorbido, disperso o incorporado en la partícula. Las nanocápsulas son sistemas vasculares que consisten en un núcleo líquido rodeado por una membrana polimérica; en este caso, el principio activo puede estar disuelto o disperso en el núcleo de la partícula (Galindo-Rodriguez *et al.*, 2015).

Las NPs son altamente dispersables en medio acuoso, ofrecen una tasa de liberación controlada y mayor estabilidad. Dependiendo del polímero que forma a la NP se puede obtener una liberación uniforme del fármaco durante un período prolongado, disminuyendo así la frecuencia de dosificación. Varios estudios han utilizado NP cargadas con fármacos para el tratamiento de la enfermedad periodontal (Tabla I) (Garg *et al.*,2018).

Tabla I. Nanopartículas poliméricas como sistema de administración de fármacos para el tratamiento de periodontitis.

AÑO	OBJETIVO	RESULTADO	POLÍMERO	FÁRMACO	REFERENCIA
2018	Desarrollar polilactida-ácido glicólico sensible al pH co-nanosfera de polímero y quitosano (PLGA / quitosano) como vehículo sensible a la inflamación y evaluar el potencial de la nanoesfera que encapsula metronidazol (MET), un antibiótico y bromuro de N-fenaciltiazolio (PTB), un modulador del huésped, para tratar la periodontitis.	Las nanoesferas de PLGA / quitosano que encapsulaban MET o PTB mostraron potencial para modular la progresión de la periodontitis	PLG	MET	Lin JH <i>et al.</i> , 2018.
2016	Investigar el efecto de la terapia fotodinámica antimicrobiana en bacterias de placa dental humana en suspensiones y biopelículas in vitro utilizando poli (co-glicólico) cargado con azul de metileno (MB) (PLGA-NPs y luz roja a 660 nm).	La utilización de nanopartículas de PLGA encapsuladas con MB puede ser un complemento prometedor en el tratamiento periodontal antimicrobiano.	PLGA	MB	De Freitas LM <i>et al.</i> , 2016.
2016	Preparar PCL cargada con atorvastatina cálcica (ATR) nanopartículas (ALPN) para evaluar la mejora de la biodisponibilidad oral, la eficacia y el perfil de seguridad del fármaco.	El estudio demostró que los ALPN son un prometedor sistema de administración de fármacos novedoso para la liberación sostenida con una biodisponibilidad mejorada, eficacia y perfil de seguridad de ATR.	PLC	ATR	Kumar N <i>et al.</i> , 2016.
2013	Desarrollar PCL-NP cargados con triclosán para el tratamiento de periodontal infecciones	Los PCL-NP cargados con triclosán sirvieron como un novedoso sistema de administración de fármacos coloidales contra las infecciones periodontales.	PCL	Triclosan	Aminu N <i>et al.</i> , 2013.

4.5 Nanopartículas como sistemas de administración de fármacos

Las nanopartículas (NP) son consideradas vehículos nanométricos que han sido utilizados para la administración de moléculas biológicas, principalmente fármacos. Dentro de sus beneficios al ser integradas con fármacos es que, aumentan la sustentividad de los principios activos poco solubles en agua, prolongan la vida media de los fármacos, y tienen la capacidad de ser administradas por diferentes vías (e. g. oral, pulmonar, subcutánea, o intravenosa) (Tokajuk G *et al.*, 2017).

El uso de NP como sistemas de administración de antimicrobianos, como la CHX, se ha implementado como estrategia terapéutica ya que diversos estudios demuestran que el proceso de encapsulación incrementa los efectos biológicos de los agentes activos, incluyendo sus parámetros farmacocinéticos, y puede reducir sus efectos secundarios (Huh AJ *et al.*, 2011). Así mismo, es posible disminuir la resistencia de los patógenos a antibióticos. Además las NP son capaces de interactuar tanto con bacterias planctónicas, como con aquellas bacterias embebidas en la matriz de una biopelícula. El mecanismo general de la actividad, de las NP contra patógenos involucra la unión a la pared de una célula y la discontinuación subsecuente de la membrana a través de su interacción directa y/o oxidación de macromoléculas (Niemirowicz K *et al.*, 2015).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño del estudio fue comparativo (se estudiarón tres tratamientos), doble ciego (tanto el investigador que realizó la maniobra experimental, como el que analizó la investigación, desconocían a que grupo pertenecían los sujetos de estudio), experimental (el investigador controló los eventos), prospectivo (los datos obtenidos fueron eventos que se presentaron en el futuro) y longitudinal (los datos se obtuvieron de los mismos sujetos en más de una ocasión y se relacionaron entre sí).

5.2 UNIVERSO DE ESTUDIO

Se incluyeron 12 pacientes adultos mayores de 23 años a 28 años de edad, quienes eran estudiantes de la Facultad de Odontología de la UANL y que presentaban buen nivel de higiene bucal y salud gingival. La población del estudio se dividió en 6 grupos: A) Agua con tensoactivo (Control negativo 1), B) Clorhexidina sin encapsular (CHX libre), (Control positivo), C) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero RL (NpCHX-RL), (Grupo experimental 1), D) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero RL (Npb-RL), (Control positivo 1), E) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero EPO (NpCHX-EPO), (Grupo experimental 2), F) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero EPO (Npb-EPO), (Control positivo 2). A los pacientes se les explicó el objetivo del estudio y las instrucciones que debían seguir durante el tiempo del ensayo. Además, se firmó un consentimiento informado acerca de su participación.

5.3 TAMAÑO DE MUESTRA

Por las condiciones de las variables a evaluar de tipo cuantitativas, se obtuvo un número total de muestra de 12 participantes.

5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN Y EXCLUSIÓN

En el estudio fueron incluidos personas de ambos géneros, en un rango de edad de 23 a 28 años, que fueran ASA I, periodontalmente sanos, con mínimo de 20 dientes a evaluar y con no más de una restauración de cobertura total.

Fueron excluidos aquellos pacientes que no cumplieron con los criterios de inclusión, que ingirieron algún antibiótico durante el estudio, que hubieran utilizado algún colutorio oral distinto al del estudio, que presentaron reacciones alérgicas, que no siguieron las indicaciones o los horarios establecidos o que se diagnosticaron con alguna enfermedad que pudiera comprometer los resultados del estudio (e. g. diabetes, VIH, SIDA), todo esto durante el periodo correspondiente al tiempo del estudio.

5.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS

5.5.1 Fase Diagnóstica

La población del estudio se dividió en 6 grupos: A) Agua con tensoactivo (Control negativo 1), B) Clorhexidina sin encapsular (CHX libre), (Control positivo), C) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero RL (NpCHX-RL), (Grupo experimental 1), D) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero RL (Npb-RL), (Control positivo 1), E) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero EPO (NpCHX-EPO), (Grupo experimental 2), F) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero EPO (Npb-EPO), (Control positivo 2).

Una vez reunida la población del estudio, se procedió a realizar la fase diagnóstica (Anexo I) en cada uno de los pacientes. También se dio a leer la hoja de consentimiento informado (Anexo II) y se realizó la firma para su participación en el estudio (Anexo III).

Se les pidió a los pacientes no utilizar ningún producto con CHX, o con algún otro agente para el control de la placa, previo al inicio del estudio, ni utilizar pasta dental por lo menos 30 minutos antes de la aplicación del tratamiento.

5.5.2 Historia Médica

Se le proporcionó al paciente un cuestionario médico para ser llenado por el mismo, donde se investigó su estado de salud general, antecedentes de enfermedades sistémicas, así como su condición oral. Durante la primera visita cada paciente fué identificado con un número en un documento de recolección de datos (Anexo IV).

5.5.3 Evaluación Periodontal

5.5.3.1 Índice de Placa

Se evaluó y se registró el índice de placa de cada paciente al inicio del estudio, a las 4 y a las 24 horas. Después de la aplicación de una solución reveladora, se obtuvo el índice de Turesky-Gilmore-Glickman, el cual consiste en valorar la placa en las superficies vestibulares y linguales de toda la dentición luego de usar el agente revelado; este índice evalúa un aspecto importante, determina la cantidad de placa dentobacteriana que se formó. El índice de placa (Tabla II) se obtuvo sumando las puntuaciones, y el resultado total, se dividió entre 8 (equivalente a los 8 dientes analizados). Este resultado final correspondió al índice de placa del paciente, información que se capturó en un formato (Anexo V).

Tabla II. Parámetros para evaluar el Índice de Placa de Turesky-Gilmore-Glickman.

NIVEL	DESCRIPCIÓN
0	Ausencia de placa.
1	Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente.
2	Una delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical del diente.
3	Una banda de placa con un espesor mayor a 1 mm pero que cubre menos de 1/3 de la corona del diente.
4	La placa cubre al menos 1/3 pero menos de 2/3 de la corona del diente.
5	La placa cubre 2/3 o más de la corona del diente.

A su vez, se obtuvo el índice de O'Leary, en los mismos intervalos que el índice de Turesky-Gilmore y Glickman. Este índice establece que tanta placa dentobacteriana se formó y se representa en porcentaje. Se tomaron en cuenta los parámetros estipulados en el formato correspondiente al Anexo VI, en donde el diente se divide en sus 4 caras y se realiza un conteo de las caras marcadas con solución reveladora, que reflejan la presencia de placa dentobacteriana. Una vez obtenidos los datos, se determina el número total de sitios con placa y se divide entre el número total de dientes (multiplicado por 4, equivalente a las 4 caras del diente), y el total se multiplica por 100, dando el porcentaje total presente en la cavidad bucal.

5.5.3.2 Índice Gingival

Se evaluó y registró el índice gingival de cada paciente al inicio del estudio, basándonos en el Índice Gingival de Löe y Silness (Tablas III y IV). Este índice evalúa dos aspectos importantes de la enfermedad gingival: edema y sangrado, lo que confiere mayor precisión; además, se limita al registro de gingivitis, no considera signos de periodontitis, evitando así crear confusión entre ambas alteraciones.

Los tejidos que rodean cada diente son divididos en cuatro unidades de medición gingival: la papila distovestibular, el margen vestibular gingival, la papila mesiovestibular y el margen gingival lingual completo.

Se examinan exclusivamente 6 dientes representativos, estos son:

- Primer molar superior derecho sustituible por 2º molar superior derecho.
- Incisivo lateral superior derecho sustituible por central superior derecho.
- Primer premolar superior izquierdo sustituible por 2º premolar superior izquierdo.
- Primer molar inferior izquierdo sustituible por 2º molar inferior izquierdo.
- Incisivo lateral inferior izquierdo sustituible por central inferior izquierdo.
- Primer premolar inferior derecho sustituible por 2º premolar inferior derecho.

Tabla III. Parámetros para evaluar el Índice de Placa de Løe y Silness

INTERVALOS	INTERPRETACIÓN
0.0	No hay inflamación
0.1-1.0	Inflamación leve
1.1- 2.0	Inflamación moderada
2.1-3.0	Inflamación severa

Los códigos y criterios que son tomados en cuenta son los siguientes:

A cada uno de los dientes examinados se le asignó un valor, el cual se obtuvo sumando los cuatro valores identificados en cada una de las cuatro zonas establecidas para la obtención del índice, posteriormente se suman y el total es dividido entre 4. El resultado final fue el valor del índice para ese diente. Así, al finalizar el recuento se llevó a cabo la sumatoria del resultado obtenido para cada uno de los seis dientes examinados y el resultado de esta suma se divide entre el número total de dientes examinados. Dicho resultado representa el valor del índice gingival para el sujeto en cuestión. Finalmente, se interpreta el significado clínico del índice gingival y el resultado se compara con los parámetros definidos por Løe y Silness. La información se capturó en un formato del Anexo VI.

Tabla IV. Parámetros para evaluar el intervalo del índice Gingival de Løe y Silness

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
0	Encía normal, de color rosa pálido, textura con aspecto de cáscara de naranja, firme y resistente.
1	Inflamación moderada, color y aspecto brillante, con hemorragia al sondeo.
2	Inflamación moderada, color rojo y aspecto brillante, con hemorragia al sondeo.
3	Inflamación severa, marcado enrojecimiento, edema y ulceraciones, tendencia a

5.5.3.3 Muestra de Placa Dentobacteriana

Se tomaron muestras de placa dentobacteriana para realizar el conteo de unidades formadoras de colonias (CFU). Las muestras de placa supragingival se tomaron de la superficie vestibular del primer molar superior derecho con un hisopo de algodón estéril. Posteriormente, el hisopo se introdujo a un tubo de ensayo con agua destilada estéril durante 20 segundos, asegurándonos de haber recorrido las paredes del tubo. Al momento de abrir el tubo de ensayo se realizó siempre bajo mechero para evitar la contaminación de la muestra. Las muestras se recolectaron a las 4 h, transcurridas a partir del detartraje y pulido, así como a las 24 h.

Las muestras fueron inoculadas directamente en medio sólido (agar ICC) y se incubaron a 37°C durante 48 horas. Posterior al tiempo de incubación, se realizó el conteo de manera visual.

5.5.4 Tratamientos

Tabla V. Descripción de Tratamientos Utilizados.

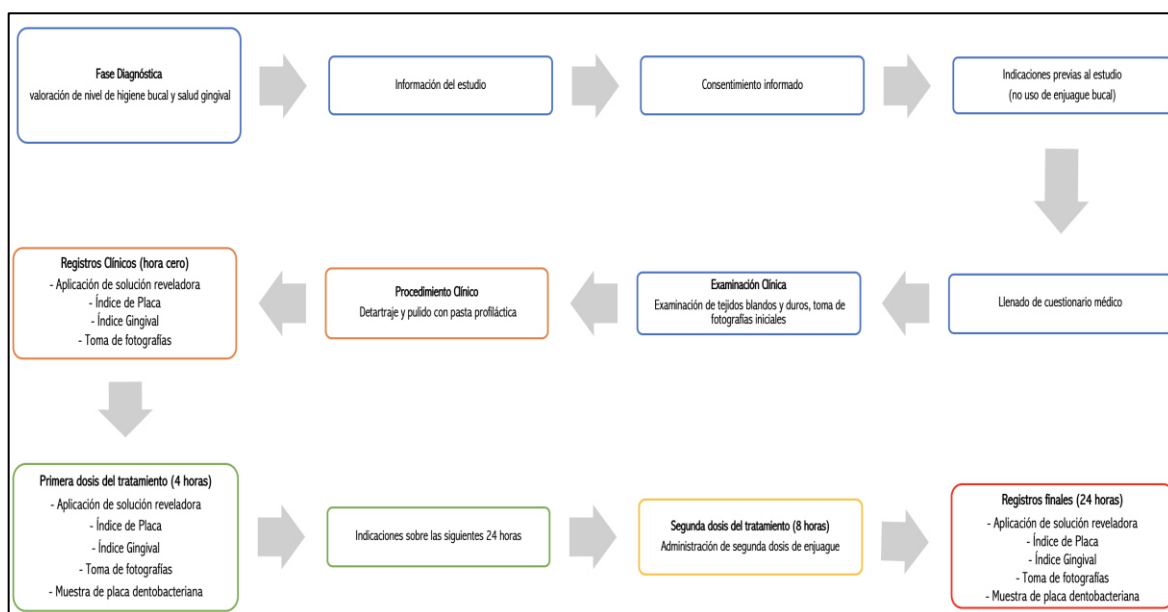
Dosificación: enjuague contenido de 15 ml.

GRUPO	FORMULACIÓN	DOSIFICACIÓN	DESCRIPCIÓN
1	Agua con tensoactivo (Control negativo 1)	Agua estéril	Agua estéril con tensoactivo
2	Clorhexidina sin encapsular (CHX libre, control positivo)	Emulsión al 0.12%	Solución de CHX con tensoactivo al 0.12%.
3	Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero RL (NpCHX-RL)	Dispersión acuosa de nanopartículas al 0.12 %	Nanopartículas poliméricas con CHX al 0.12 %
4	Formulaciones de nanopartículas blanco polímero RL	Dispersión acuosa de nanopartículas sin CHX	Nanopartículas blanco sin CHX
5	Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero EPO (NpCHX-EPO, grupo experimental 2)	Dispersión acuosa de nanopartículas al 0.12 %.	Nanopartículas poliméricas con CHX al 0.12 % obtenidas mediante el método de nanoprecipitación.
6	Formulaciones de nanopartículas blanco polímero EPO (Npb-EPO, control positivo 2).	Dispersión acuosa de nanopartículas sin CHX	Nanopartículas blanco sin CHX

Los pacientes recibieron instrucciones para realizar el enjuague bucal, de acuerdo con las indicaciones aprobadas a formulaciones comerciales que utilizan el mismo agente a la misma concentración. De acuerdo con esta aplicación, el paciente cubrió totalmente la cavidad bucal con el tratamiento (15 ml) asignado por 1 min.

Al concluir la aplicación se desechó la solución asignada y no se enjuagó con agua. No hubo restricciones en cuanto al consumo de comidas y bebidas después de la aplicación de la solución. Se dieron indicaciones de mantenimiento de higiene oral.

5.6 DIAGRAMA DE FLUJO



5.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS

"Todos los procedimientos estuvieron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud":

- Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II. Investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.
- Título tercero. De la investigación de nuevos **recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación**. Capítulo I, Artículos 61-64. Cuando se realice investigación en seres humanos sobre nuevos (o se modifiquen) recursos profilácticos, diagnóstico, terapéuticos o rehabilitación, además deberán solicitar autorización de la Secretaría presentando documentación requerida.
- Título tercero, Capítulo II. De la investigación **farmacológica**, Artículos 65-71.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

6. RESULTADOS

En los grupos de estudio fueron incluidos un total de 12 pacientes, 4 hombres y 8 mujeres, con un rango de edad de 24-28 años y con un promedio de 25 años. La población del estudio se dividió en 6 grupos a los que se les aplicaron los siguientes tratamientos: A) Agua con tensoactivo (Agua) (Control negativo 1), B) Clorhexidina sin encapsular (CHX libre) (Control positivo), C) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero RL (NpCHX-RL) (Grupo experimental 1), D) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero RL (Npb-RL)(Control positivo 1), E) Formulaciones de nanopartículas con CHX polímero EPO (NpCHX-EPO) (Grupo experimental 2) y F) Formulaciones de nanopartículas blanco polímero EPO (Npb-EPO) (Control positivo 2). Para la formulación de los dos enjuagues con clorhexidina incorporada en nanopartículas, se utilizaron polímeros formadores de nanopartículas distintos (i.e. Eudragit RL y Eudragit EPO).

Se realizaron mediciones del índice de Turesky y de O'Leary a las 0, 4, y 24 h, para analizar la formación de placa dentobacteriana. Los resultados se muestran en las Figuras 3 y 4 respectivamente. Además, en las Figuras 5 y 7 se presentan fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 4 h para los tratamientos con los dos tipos de nanopartículas (i.e. polímero RL y polímero EPO) con clorhexidina. La Figura 6 corresponde fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 24 h del tratamiento con las nanopartículas de polímero EPO con clorhexidina. Y La figura 8 corresponde fotografías con imágenes clínicas tomadas a las 24 h del tratamiento con las nanopartículas de polímero RL con clorhexidina.

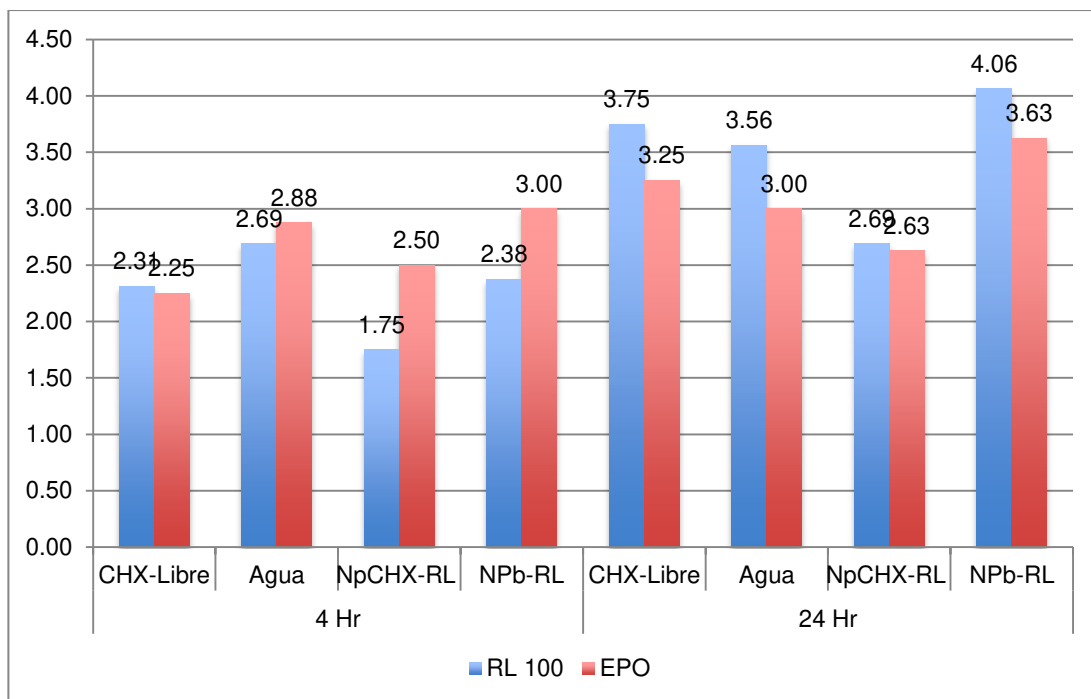


Figura 3. Índice de Turesky por tipo de polímero y tiempo de evaluación.

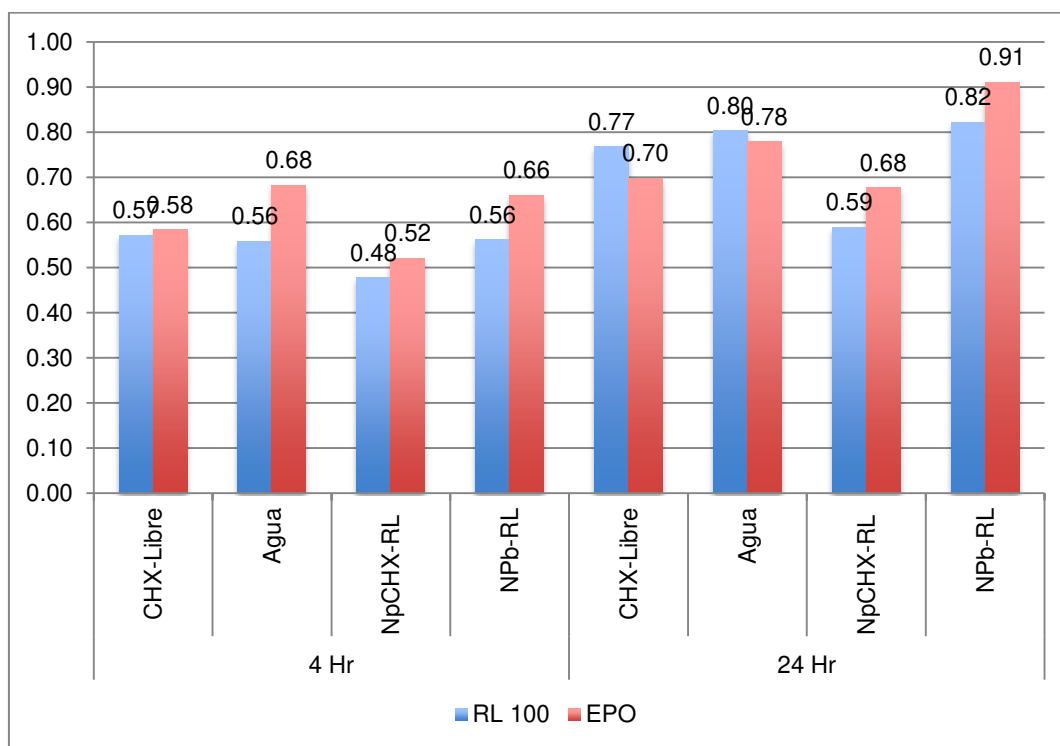


Figura 4. Índice de O'Leary por tipo de polímero y tiempo de evaluación.



Figura 5. Formación de placa a las 4 h después de aplicar el tratamiento con nanopartículas de polímero RL con clorhexidina. A) Agua, B) CHX libre, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL.



Figura 6. Formación de placa a las 24 h después de aplicar el tratamiento con nanopartículas de polímero EPO con clorhexidina. A) Agua, B) CHX libre, C) NpCHX-RL, D) Npb-RL.

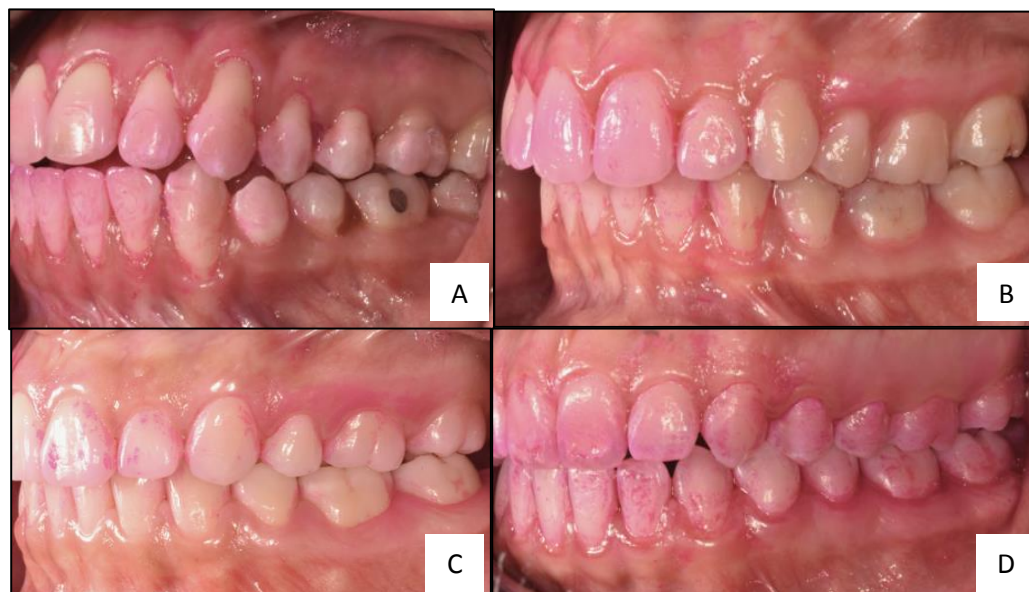


Figura 7. Formación de placa correspondiente a 4 h grupo RL100. A) Agua, B) CHX Np, C) CHX libre, D) NpCHX-EPO.



Figura 8. Formación de placa correspondiente a 24 h grupo EPO A) Agua, B) CHX libre C) NpCHX-EPO, C) CHX libre, D) NpCHX-EPO.

La Figura 9 muestra la evolución de las UFC determinadas a las 4 y 24 h del estudio.

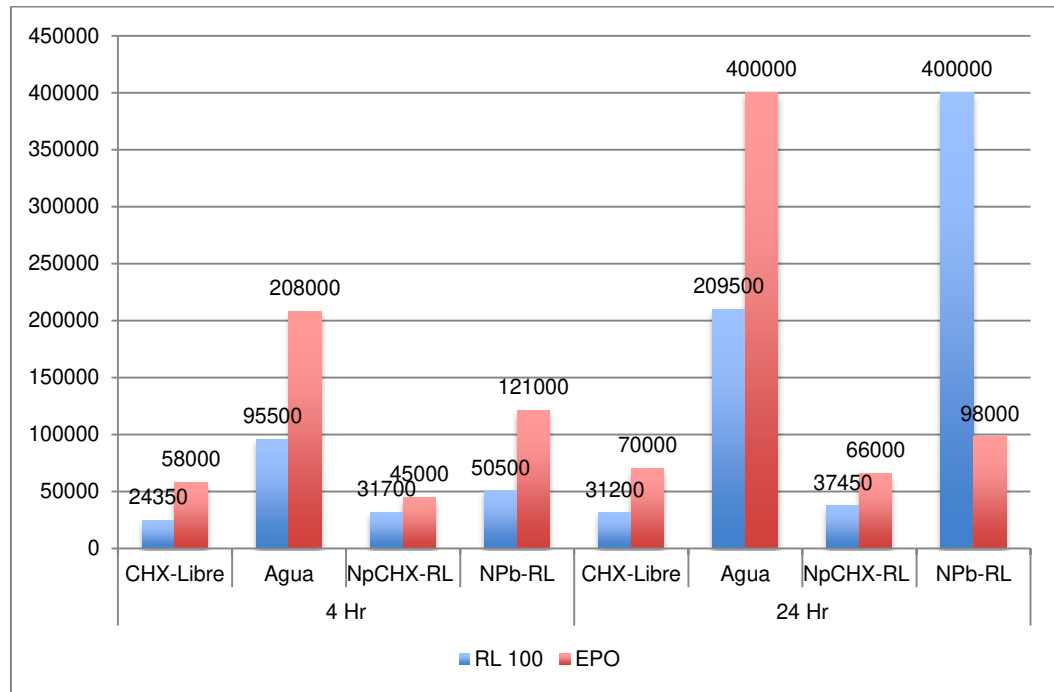


Figura 9. Conteo de UFC de muestras microbiológicas tomadas de la superficie dental vestibular de dientes 1.6 y 1.7 después de 4 h de aplicación de tratamiento de clorhexidina incorporada en NP de polímero RL.

En la Figura 10 se muestra el crecimiento microbiano de muestras tomadas de superficie dental vestibular de dientes 1.6 y 1.7 después de 4 h de aplicación de tratamiento. Y en la Figura 11 se muestra el crecimiento microbiano de muestras después de 24 h de aplicación del tratamiento A) Agua, B) CHX libre, C) Np-CHX-RL, D) NpRL-Blanco.

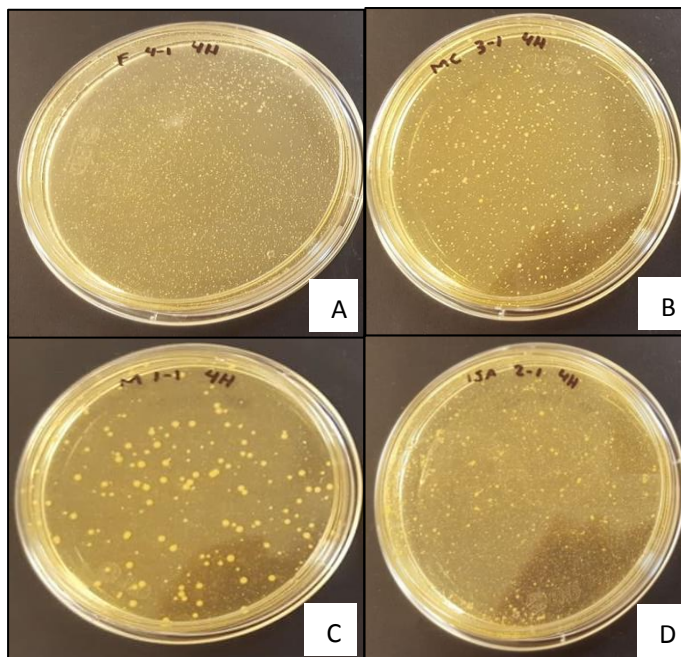


Figura 10. Cultivos correspondientes a muestras tomadas en el periodo correspondiente a 4 h.

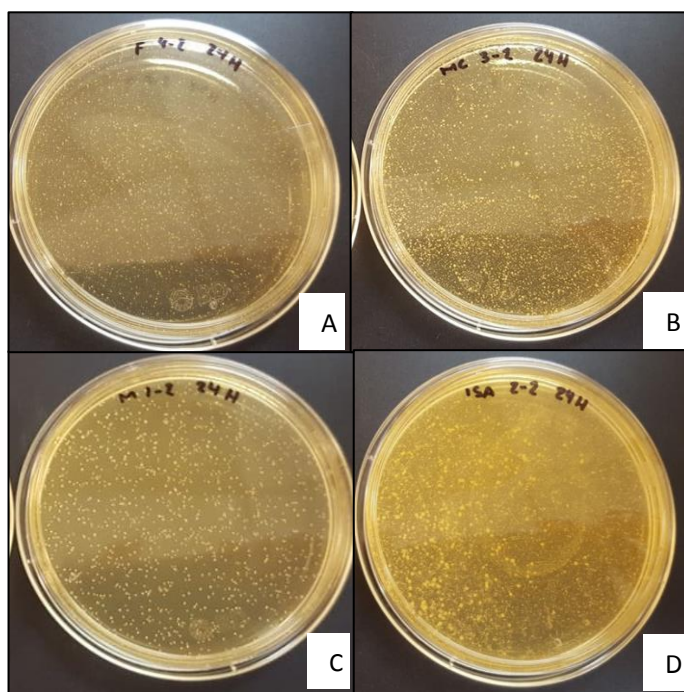


Figura 11. Cultivos correspondientes a muestras tomadas en el periodo correspondiente a 24 h.

7. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la clorhexidina incorporada en nanopartículas poliméricas sobre su actividad para inhibir la formación de placa dentobacteriana. La clorhexidina se formuló en dos tipos de nanopartículas, las cuales fueron preparadas con dos polímeros distintitos, Eudragit EPO y Eudragit RL.

La discusión se enfocará primeramente a analizar el efecto de la nanoencapsulación sobre el efecto antiplaca de la clorhexidina. En este caso, se comparará el efecto de la clorhexidina emulsionada (también denominada clorhexidina sin encapsular) con el efecto antiplaca de la clorhexidina incorporada en las dos formulaciones de nanopartículas, una con polímero EPO y la otra con polímero RL (Figuras 3 y 4). Posteriormente, se realizará un análisis entre las dos formulaciones de nanopartículas con clorhexidina.

Con respecto a los grupos en donde se utilizó el polímero RL100, en la Figura 3 se muestran los resultados para el índice de Turesky. Se puede observar que, en general, todos los pacientes mostraron mayor presencia de placa, lo cual resulta normal ya que no realizaron cepillado durante las 24 h. Esto se puede apreciar visualmente en las fotografías de las Figuras 6 y 8. Los dos grupos que presentaron mayor presencia de placa dentobacteriana fueron aquellos que no contenían CHX. El Grupo A, tratado solo con agua y tensoactivo, presentó una media de 2.69 ± 1.33 a las 4 h, y de 3.56 ± 0.80 a las 24 h. Por su parte, el Grupo NPb-RL, nanopartículas RL sin clorhexidina, obtuvo una media de 2.38 ± 0.35 a las 4 h y de 4.06 ± 0.62 a las 24 h. La mayor presencia de placa en ambos se debió a que la ausencia del antiséptico favoreció el desarrollo normal de la placa dentobacteriana. Comparando entre los tratamientos con CHX, se puede observar que la CHX emulsionada presentó mayor presencia de placa, tanto a las 4 como a las 24 h, que el tratamiento de nanopartículas de polímero RL con CHX. El grupo CHX-Libre obtuvo medias de 2.31 ± 0.44 y 3.75 ± 0.53 a las 4 y 24 h, respectivamente; mientras que el Grupo NpCHX-RL obtuvo medias de 1.75 ± 0.88 y 2.69 ± 0.27 a las 4 y 24 h. Este efecto pudo deberse a que estructura polimérica de la nanopartícula tuvo una mejor interacción con las estructuras de la cavidad bucal (e.g. encías y dientes), lo que permitió retener por más tiempo a la CHX en boca y liberarla

gradualmente para prolongar su efecto antiplaca. Este efecto se vio reflejado parcialmente en la evaluación microbiológica (Figura 9). Los tratamientos con clorhexidina, tanto libre como incorporada en nanopartículas, presentaron los menores resultados de UFC, 31,200 y 37,450, respectivamente. Aunque en primera instancia, parece no haber coincidencia entre los IP y el resultado de UFC de los dos tratamientos. Cabe señalar que la inconsistencia en los valores de UFC pudo deberse a que, por el método de conteo utilizado, solo se cuantificaron las colonias de microorganismos aerobios, sin considerar los anaerobios (Figuras 10 y 11). Cabe señalar que en el tratamiento estadístico de los datos no se pudo apreciar en diferencia significativa en la formación de placa.

En relación con los grupos en donde se utilizó el polímero EPO, en la Figura 3 se muestran los resultados para el índice de Turesky. Se puede observar que, al igual que con el polímero RL, todos los pacientes mostraron mayor presencia de placa, lo cual resulta normal ya que no realizaron cepillado durante las 24 h. Esto se puede apreciar visualmente en las fotografías de las Figuras 5 y 6. Los dos grupos que no contenían CHX fueron los que presentaron mayor presencia de placa dentobacteriana. El tratado solo con agua y tensoactivo presentó una media de 2.88 a las 4 h y de 3.00 a las 24 h. Por su parte, el Grupo NPb-EPO obtuvo un IP de 2.50 a las 4 h y de 2.63 a las 24 h. La mayor presencia de placa en ambos se debió a que la ausencia del antiséptico favoreció el desarrollo normal de la placa dentobacteriana. Comparando entre los tratamientos con CHX, se puede observar que la CHX emulsionada presentó mayor presencia de placa, tanto a las 4 como a las 24 h, que el tratamiento de nanopartículas de polímero EPO con CHX. El grupo CHX-Libre obtuvo valores de IP de 2.25 y 3.25 a las 4 y 24 h, respectivamente; mientras que el Grupo NpCHX-EPO obtuvo valores de 2.50 y 2.63 a las 4 y 24 h. Al igual que con las NP de polímero RL, este efecto pudo deberse a que estructura polimérica de la nanopartícula tuvo una mejor interacción con las estructuras de la cavidad bucal (e.g. encías y dientes), lo que permitió retener por más tiempo a la CHX en boca y liberarla gradualmente para prolongar su efecto antiplaca. Este efecto se vio reflejado parcialmente en la evaluación microbiológica (Figura 9). Considerando el estudio microbiológico, los tratamientos con clorhexidina, tanto libre (CHX-Libre) como incorporada en nanopartículas (NpCHX-EPO), presentaron los menores

resultados de UFC, 70,000 y 66,000, respectivamente. Aunque en primera instancia, parece no haber coincidencia entre los IP y el resultado de UFC de los dos tratamientos. Cabe señalar que la inconsistencia en los valores de UFC pudo deberse a que, por el método de conteo utilizado, solo se cuantificaron las colonias de microorganismos aerobios, sin considerar los anaerobios (Figuras 10 y 11). Cabe señalar que en el tratamiento estadístico de los datos no se pudo apreciar en diferencia significativa en la formación de placa.

Otro índice tomado en cuenta es el de O'Leary (Figura 4), en el cual se pudo identificar que los resultados tenían un comportamiento similar a los obtenidos en el índice de Turesky. Por ejemplo, en el periodo de 4 h se observó que los dos grupos de nanopartículas de polímeros cargados con CHX, tuvieron el menor valor en comparación con los demás grupos. A las 24 h se pudo observar que éstos mismos grupos de CHX encapsulada tuvieron la menor formación de placa, pero comparando los polímeros se logra identificar que el grupo RL100 tuvo el mayor efecto antiplaca en comparación con el grupo EPO, en base a este índice. Es posible que la estructura del polímero y su comportamiento para liberar la CHX nanoencapsulada influyeran sobre el efecto antiplaca del fármaco. Otro aspecto para tomar en cuenta en los resultados obtenidos es que los grupos con nanopartículas blanco es decir sin estar cargadas con CHX, a un periodo de 24 h tuvieron el mayor valor de formación en en índice de placa.

8. CONCLUSIÓN

La finalidad de la presente investigación fue evaluar el efecto de la clorhexidina incorporada en nanopartículas poliméricas sobre su actividad para inhibir la formación de placa dentobacteriana. La clorhexidina se formuló en dos tipos de nanopartículas, preparadas con dos polímeros distintitos, Eudragit EPO y Eudragit RL, y se comparó clínicamente con el efecto de la CHX no nanoencapsulada (i.e. CHX libre). Los resultados mostraron que las formulaciones de nanopartículas con CHX presentaron menores IP (Figuras 3 y 4) que la CHX no nanoencapsulada. Estos resultados se confirmaron con estudios microbiológicos de UFC. Por lo tanto, se puede concluir que la aplicación de formulaciones de CHX nanoencapsulada puede prolongar la actividad antiséptica del fármaco.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abiodun-Solanke , Ajayi, Dm, Arigbede, Ao. Nanotechnology and its Application in Dentistry. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 2014;3(4):171-177.

Addy M, Moran JM. Evaluation of oral hygiene products: science is true; don't be misled by the facts. *Periodontol 2000*. 1997;(15):40–51.

Aminu N, Baboota S, Pramod K, Singh M, Dang S, Ansari SH, Sahni JK, Ali J. Development and evaluation of triclosan loaded poly-ε-caprolactone nanoparticulate system for the treatment of periodontal infections. *Journal of Nanoparticle Research*. 2013;15(11):2075.

Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis*. 2003;9 Suppl 1:23-9.

Beikler T, Flemmig TF. Oral biofilm-associated diseases: trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures. *Periodontol 2000*. 2011;55(1):87–103.

Burton Rosan, Richard J. Lamont. Dental Plaque Formation. *Microbes and Infection* 2000;2(13):1599-1607.

Charles M. Cobb. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planning. *J Clin Periodontol* 2002; 29 (Suppl 2): 6-16.

Cobb C M. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 2002; 29 (2): 6–16.

De Freitas LM, Calixto GM, Chorilli M, Giusti JS, Bagnato VS, Soukos NS, Amiji MM, Fontana CR. Polymeric nanoparticle- based photodynamic therapy for chronic periodontitis in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(5):769.

Del Pozo JL. Biofilm-related disease. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018;16(1):51-65.

Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. 2013. Principles of periodontology. *Periodontol* 2000.61(1):16-53.

Fakhar ud Din, Waqar Aman, Izhar Ullah, Omer Salman Qureshi, Omer Mustapha, Shumaila Shafique, Alam Zeb. *International Journal of Nanomedicine* 2017;12 7291-7309

Fischman SL. Clinical index systems used to assess the efficacy of mouthrinses on plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1988; 15(8):506-10.

Forier K, Raemdonck K, De Smedt SC, Demeester J, Coenye T, Braeckmans K. Lipid and polymer nanoparticles for drug delivery to bacterial biofilms. *J Controlled Release*. 2014;28(23):599-607.

Foulkes DM. Some toxicological observations on chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl*. 1973;12:55–60.

Gupta Shalini, Kshitiz Rakesh, Om Prakash Gupta, Shally Khanna, Anupam Purwar, Yogender Verma, Role of Nanotechnology and Nanoparticles in Dentistry: A Review. 2013;3:95-102.

Hallmon WW, Harrel SK. Occlusal analysis, diagnosis and management in the practice of periodontics. *Periodontol* 2000. 2004;34(1):151–64.

Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009;54:S11–26.

Huh AJ, Kwon YJ. “Nanoantibiotics”: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release Off J Control Release Soc*. 2011;156(2):128–45.

James P, Worthington H, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, Whelton H, Riley P. Enjuague bucal con clorhexidina como tratamiento adyuvante para la salud gingival. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017 Issue 3. Art. No.: CD008676.

James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 31;3:CD008676.

Jepsen K, Jepsen S. Antibiotics/antimicrobials: systemic and local administration in the therapy of mild to moderately advanced periodontitis. *Periodontol* 2000. 2016;71(1):82–112.

Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 2002;(15):55–62.

Keijser JAM, Verkade H, Timmerman MF, Van der Weijden FA. Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses. *J Periodontol*. 2003;74(2):214–8.

Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1560–8.

Kornman KS. Nature of periodontal diseases: Assessment and diagnosis. *J Periodontal Res*. 1987;22(3):192–204.

Kumar N, Chaurasia S, Patel RR, Khan G, Kumar V, Mishra B. Atorvastatin calcium loaded PCL nanoparticles: Development, optimization, in vitro and in vivo assessments. *RSC Advances*. 2016;6(20): 16520-32.

Li X, Wong C-H, Ng T-W, Zhang C-F, Leung KC-F, Jin L. The spherical nanoparticle-encapsulated chlorhexidine enhances anti-biofilm efficiency through an effective releasing mode and close microbial interactions. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:2471–80.

Lin JH, Feng F, Yu MC, Wang CH, Chang PC. Modulation of periodontitis progression using pH- responsive nanosphere encapsulating metronidazole or N-phenacylthiazolium bromide. *Journal of periodontal research*. 2018;53(1):22-8.

Loe H, Theilade E, Jensen SB. EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *J Periodontol*. 1965;(36):177–87.

Löe H. Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J*. 2000;50(3):129–39.

Marsh PD, Percival RS. The oral microflora--friend or foe? Can we decide? *Int Dent J*. 2006;56(4 Suppl 1):233–9.

Mombelli A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):85–96.

Moshrefi A. Chlorhexidine. *J West Soc Periodontol Abstr*. 2002;50(1):5–9.

Newman, Takei, Klokkevold, Carranza, Capítulo 8, Biologic Basis of Periodontology, CLINICAL PERIODONTOLOGY Elangovan, Freire, Jepsen, ELSEVIER, Philadelphia 2019.

Niemirowicz K, Prokop I, Wilczewska AZ, Wnorowska U, Piktel E, Wątek M, et al. Magnetic nanoparticles enhance the anticancer activity of cathelicidin LL-37 peptide against colon cancer cells. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:3843–53.

Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions: Classification and case definitions for periodontitis. *J Periodontol*. 2018 ;89:S173–82.

Philip D. Marsh, Annette Moter & Deirdre A. Devine. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol 2000*. 2011;55(1):16-35.

Priyadarshini BM, Selvan ST, Lu TB, Xie H, Neo J, Fawzy AS. Chlorhexidine Nanocapsule Drug Delivery Approach to the Resin-Dentin Interface. *J Dent Res*. 2016;95(9):1065–72.

Rao JP, Geckeler KE. Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. *Prog Polym Sci*. 2011;36(7):887–913.

Rosan, B. and Lamont, R.J. Dental Plaque Formation. *Microbes and Infection*. 2000; 2:599-1607.

Santos GOD, Milanesi FC, Greggianin BF, Fernandes MI, Oppermann RV, Weidlich P. Chlorhexidine with or without alcohol against biofilm formation: efficacy, adverse events and taste preference. *Braz Oral Res*. 2017(4)e31:e32.

Serrano J, Escribano M, Roldán S, Martín C, Herrera D. Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2015(1);42:S106–38.

Shalini Gupta, Kshitiz Rakesh, Om Prakash Gupta, Shally Khanna, Anupam Purwar, Yogender Verma. Role of Nanotechnology and Nanoparticles in Dentistry: A Review. *Int. J. Res. Dev*. 2013;2(1):95-102.

Sheiham A. Is the chemical prevention of gingivitis necessary to prevent severe periodontitis? *Periodontol 2000*. 1997;(15):15–24.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002;28:12–55.

Teles RP, Teles FRF. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res*. 2009;23 Suppl 1:39–48.

Tokajuk G, Niemirowicz K, Deptuła P, Piktel E, Cieśluk M, Wilczewska AZ, et al. Use of magnetic nanoparticles as a drug delivery system to improve chlorhexidine antimicrobial activity. *Int J Nanomedicine*. 2017;(12):7833–46.

Van Strydonck DAC, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2012;39(11):1042–55.

10. RESUMEN BIOGRÁFICO

Claudia Alejandra Espinoza Luque

Candidato para el Grado de:
Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con
Implantología Oral

Tesis: “PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA DENTOBACTERIANA CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA.”

Campo de estudio: Ciencias de la salud.

Datos personales: Nacida en Mexicali, Baja California, México, el 31 de Agosto de 1992.

Educación: Egresado de la Licenciatura de Cirujano Dentista de la Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Odontología,

11. ANEXOS

ANEXO I. FORMA DE SELECCIÓN INICIAL

NOMBRE DEL PARTICIPANTE: _____

FECHA _____

NÚMERO DEL SUJETO _____ SEXO _____ EDAD _____

1. ¿El participante tiene 18 años o más? SI _____ NO _____
2. ¿El participante está disponible para completar el tiempo de duración del estudio?
SI _____ NO _____
3. ¿El participante tiene buena salud general? SI _____ NO _____
4. ¿El participante tiene 20 dientes permanentes naturales en boca (excluyendo 3º molares)?
SI _____ NO _____
5. ¿El participante tiene gingivitis? SI _____ NO _____
6. ¿El participante firmó una forma de consentimiento informado? SI _____ NO _____

Si respondió NO a alguna de las preguntas el participante no es elegible para el estudio. Si respondió SI a todo, por favor, conteste las siguientes preguntas de la A a la L:

- A. SI / NO, ¿El participante ha usado de forma crónica (es decir, por 2 semanas o más), enjuague bucal con clorhexidina por 1 mes antes del tratamiento?
- B. SI / NO, ¿El participante tiene alguna patología oral grave, que incluya caries extensa, restauración extensa, cantidades muy grandes de placa y cálculo, o algún tumor blando o duro en la cavidad oral?
- C. SI / NO, ¿El participante tiene periodontitis (i.e. examen de sondaje con más o igual a 5 mm de profundidad)?
- D. SI / NO, ¿El participante tiene historia de periodontitis crónica, agresiva o gingivitis ulcerativa necrosante?
- E. SI / NO, ¿El paciente se realizó algún tratamiento endodóntico y periodontal diferente a profilaxis 6 meses antes del inicio del estudio?
- F. SI / NO, ¿El participante tiene aparatos de ortodoncia o dentaduras parciales removibles?
- G. SI / NO, ¿El paciente tiene alguna enfermedad orgánica significativa o inestable?

H. SI / NO, ¿El paciente tiene algún problema en la cicatrización como desórdenes del tejido conectivo?; ¿El paciente tiene soplos cardíacos, historia de fiebre reumática, enfermedad valvular o prótesis de alguna articulación que necesite profilaxis antibiótica?

I. SI / NO, ¿Si es mujer, está embarazada o lactando?

J. SI / NO, ¿Tiene alguna enfermedad infecciosa como hepatitis, alguna inmunodeficiencia viral o tuberculosis?

K. SI / NO, ¿Ha sido diagnosticado con VIH?

L. SI / NO, ¿Es alérgico a productos de higiene oral?

Si la respuesta a alguna pregunta de la A-L es SI, el sujeto no es elegible para el estudio; el sujeto que si sea elegible debe contestar la siguiente pregunta:

7. ¿El paciente es elegible para el estudio? SI_____ NO_____

FECHA

ANEXO II. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

POSGRADO DE PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA ORAL

¿Cuáles son los posibles riesgos e inconvenientes de participar en el estudio?

- Usted podría presentar incomodidad durante el examen de su encía.
- Existe un riesgo insignificante de irritación de los tejidos blandos/encía y una hipersensibilidad transitoria de los dientes con el uso de clorhexidina. Estos síntomas se resolverán al paso de los días.

¿Cómo se preservará la confidencialidad de mis datos?

Durante el estudio nosotros aseguramos la protección de la información personal de cada uno de los participantes. Ninguno de los participantes se identificará con su nombre en ningún reporte o publicaciones del estudio. Cada paciente recibirá un número o código único, y cualquier información acerca de la participación, así como las fotografías y los resultados del análisis mencionado en los documentos del estudio se relacionarán con este código.

¿Qué pasa si abandono mi consentimiento de participar en el estudio antes de que este termine?

Usted puede decidir abandonar el estudio en cualquier momento, su retiro del estudio no resultará en ninguna penalidad. El equipo de estudio también puede removerlo en cualquier momento, si se pone en evidencia que el participante no está siguiendo las instrucciones indicadas al comienzo, si se presenta un evento adverso inesperado o si no puede completar el período del estudio.

¿A quién puedo contactar en caso de que tenga alguna pregunta en relación al estudio?

Usted tiene el derecho de preguntar cualquier duda en relación al estudio y obtener las respuestas. Si tiene alguna por favor contacte a alguno de los miembros del equipo.

Título del estudio:

“PREVENCIÓN DE LA FORMACIÓN DE LA PLACA DENTOBACTERIANA CON CLORHEXIDINA NANOENCAPSULADA”.

Investigador principal: Dra. Claudia Alejandra Espinoza Luque.

ANEXO III. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Forma de consentimiento informado:

He leído la información anteriormente mencionada. Tuve la oportunidad de realizar cualquier pregunta acerca del estudio y me fueron contestadas de forma satisfactoria. Doy mi consentimiento informado voluntario de participar en el estudio.

Firma del participante

Nombre del participante

Fecha

Firma de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

Nombre de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

Clave:

ANEXO IV. HISTORIA CLÍNICA

FICHA DE IDENTIDAD		Fecha:
Nombre del paciente:		
Fecha de Nacimiento:		Nacionalidad:
Edad:	Género (Sexo):	Estado civil:
Domicilio:		
Teléfono:	Celular:	E-mail:
Ocupación:		Tel:
Domicilio del trabajo:		
En caso de emergencia comunicarse con:		
Parentesco:		Tel:
Último tratamiento dental:		

ANTECEDENTES

Escriba en el espacio correspondiente una X, si la respuesta a la pregunta es negativa, en caso de ser positiva describa detalladamente en el espacio siguiente

1. ¿Ha estado bajo la atención de un Médico?	
Sí	No
2. ¿Ha estado hospitalizado?	
Sí	
3. ¿Ha tenido transfusión sanguínea?	
Sí	No
4. ¿Se encuentra embarazada?	No

Sí, ¿Cuántos meses tiene?		Complicaciones:	
5. ¿Es alérgico? (anestesia, medicamentos, alimentos, objetos, etc.) ¿qué reacción presenta?			
Sí, descríbalos		No	
6. ¿Está tomando algún medicamento? ¿Cuál? ¿Para qué? ¿Qué dosis y con qué frecuencia lo toma?			
Sí		No	
<i>Medicamento</i>	<i>Indicación</i>	<i>Dosis</i>	
7. ¿Toma alcohol? Especifique cantidad.		No	
Sí			
8. ¿Fuma ó masca tabaco? Especifique cantidad.		No	
Sí			
9. ¿Se ha realizado algún examen físico? ¿Cuándo? ¿Por qué?		No	
Sí			
10. ¿Padece de alguna enfermedad en sus ojos?		No	
Sí			
11. ¿Padece de alguna enfermedad en sus oídos?		No	
Sí			
12. ¿Padece de algún trastorno genético?		No	
Sí			
13. ¿Ha tenido aftas ó Herpes?		No	

Sí	
14. ¿Ha tenido Cáncer?	No
Sí	
15. ¿Trabaja con radiación?	No
Sí	

INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS

1. ¿Padece de alguna enfermedad del corazón?				No
Fiebre Reumática		Soplo		Hipertensión
Hipotensión	Infarto	Ateroesclerosis	Embolia	
Comentarios:				
2. ¿Padece de algún defecto congénito?				No
Sí				
4. ¿Siente dolor en el pecho al hacer ejercicio?				No
Sí				
5. ¿Se le dificulta la respiración después de algún esfuerzo leve?				No
Sí				
6. ¿Padece alguna enfermedad respiratoria?				No
Dificultad para respirar		Resfriado		Sinusitis
Asma	Enfisema	Tuberculosis	Otros	
Comentarios:				
7. ¿Padece alguna enfermedad gastrointestinal?				No
Úlcera	Gastritis	Colitis	Reflujo	
Neoplasia	Otros			
Comentarios:				
8. ¿Padece del hígado ó vías biliares?				No

Ictericia	Hepatitis	Cirrosis	Colelitiasis
Colecistitis	Otros		
Comentarios:			
9. ¿Padece alguna enfermedad genital ó del riñón?			No
Infecciones	Litiasis	E. Venérea	Incontinencia
Cistitis	Neoplasia	Otros	
Comentarios:			
10. ¿Padece alguna enfermedad hormonal?			No
Diabetes	Tiroides	Paratiroides	Hipófisis
Timo	Neoplasia endocrina múltiple	Suprarrenal	Otros
Comentarios:			
11. ¿Padece alguna enfermedad de la sangre?			No
Hemofilia	Fragilidad capilar	Anemia	Leucemia
Anticoagulantes	S.I.D.A.	Colesterolemia	
12. ¿Padece alguna enfermedad de la cabeza ó nervios?			No
Convulsiones	Desmayos	Depresión	Tx. Psiquiátrico.
Alzheimer	Mal de Parkinson	Esclerosis múltiple	Neuropatía periférica
Problemas emocionales	Estrés	Nervios	Otros
Comentarios:			
13. ¿Padece de problemas músculo esqueléticos?			No
Osteoporosis	Osteoartritis	Bursitis	Atrofia muscular
Distrofia muscular	Miastenia grave	Neoplasia	Otros
Comentarios:			
14. ¿Padece algún trastorno inmune?			No

Lupus eritematoso	Artritis reumatoide	Sjögren	Esclerosis sistémica
Inmunodeficiencia primaria		S.I.D.A	Otros
Comentarios:			
17. ¿Tiene dolor en su boca en este momento?			No
Sí			
18. ¿Ha recibido tratamiento en sus encías?	Sí	No	Lo desconozco
19. ¿Ha tenido sus encías inflamadas, o con postemillas?	Sí	No	Lo desconozco
20. ¿Sangran sus encías?	Sí	No	Lo desconozco
21. ¿Ha notado mal aliento y sabor en su boca?	Sí	No	Lo desconozco
22. ¿Acostumbra a respirar frecuentemente por su boca?	Sí	No	Lo desconozco
23. ¿Padece frecuentemente de aftas o ulceraciones en su boca?	Sí	No	Lo desconozco
24. ¿Tiene dientes sensibles al calor, frío o lo dulce?	Sí	No	Lo desconozco
25. ¿Tiene usted dientes flojos?	Sí	No	Lo desconozco
26. ¿Se le han separado sus dientes últimamente?	Sí	No	Lo desconozco
27. ¿Ha tenido ortodoncia (Brackets)?	Sí	No	Lo desconozco
28. ¿Le agrada a usted la apariencia de su boca? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco
29. ¿Se le atorán alimentos entre sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
30. ¿Se ha sentido más tensionado últimamente? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco

31. ¿Ha notado si con frecuencia rechina o aprieta sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
32. ¿Mastica usted con todos sus dientes? ¿Por qué?	Sí	No	Lo desconozco
33. ¿Tiene dientes que están más sensibles al morder?	Sí	No	Lo desconozco
34. ¿Le afectaría que tuviera que perder sus dientes?	Sí	No	Lo desconozco
35. ¿Cepilla sus dientes por lo menos dos veces al día?	Sí	No	Lo desconozco
36. ¿Utiliza hilo dental, palillos dentales o irrigadores de agua? ¿Cuál?	Sí	No	Lo desconozco
37. ¿Ha tenido malas experiencias con algún dentista?	Sí	No	Lo desconozco
38. ¿Sabe usted si forma sarro o placa dentobacteriana rápido?	Sí	No	Lo desconozco
39. ¿Acostumbra usted a desayunar, comer y cenar?	Sí	No	Lo desconozco
40. ¿Esta o ha estado usted en alguna dieta?	Sí	No	Lo desconozco

Tiene usted alguna enfermedad, condición o problema que no esté en la lista y que crea usted que deberíamos conocer.

Por favor descríballo:

Hasta donde yo conozco todas las preguntas anteriores las he contestado con la verdad y son ciertas. Si hay algún cambio me hago responsable de informar al Doctor.

Nombre

Firma

Fecha

Clave:

ANEXO V. ÍNDICE DE PLACA TURESKY-GILMORE-GLICKMAN

0= Ausencia de placa

1= Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente

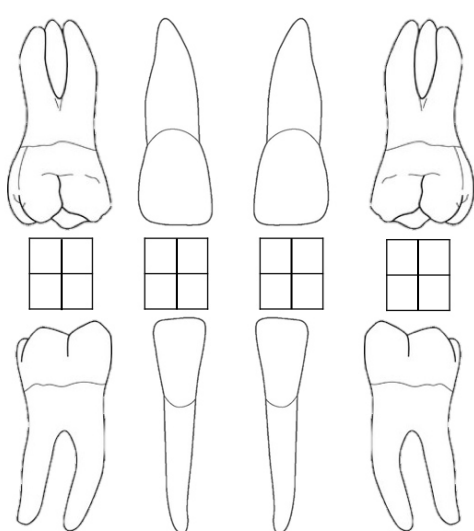
2= Delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical del diente

3= Banda de placa mayor a 1 mm pero que cubre menos de un tercio de la corona del diente

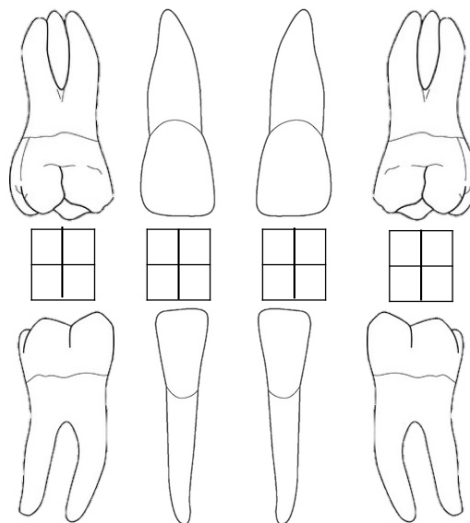
4= La placa cubre al menos un tercio pero menos de dos tercios de la corona del diente

5= La placa cubre dos tercios o más de la corona del diente

INICIAL



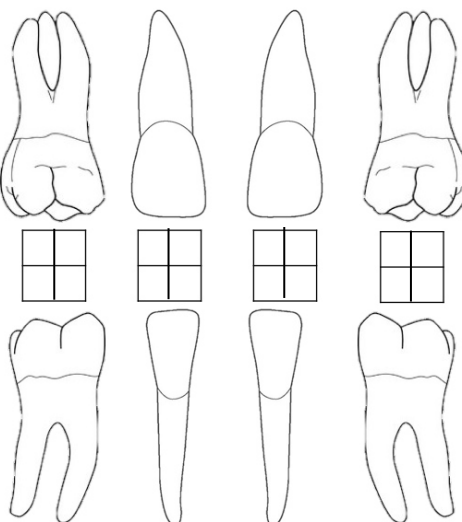
PROMEDIO: _____



4 HRS

PROMEDIO: _____

24 HRS



PROMEDIO: _____

Clave:

ANEXO VI. ÍNDICE GINGIVAL DE LÖE Y SILNESS

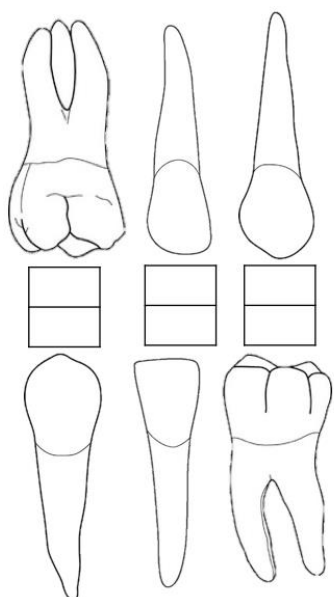
0= Encía normal, de color rosa pálido, textura con aspecto de cáscara de naranja, firme y resistente

1= Inflamación leve, se observa con ligero enrojecimiento gingival, sin hemorragia al sondeo

2= Inflamación moderada, color rojo y aspecto brillante, con hemorragia al sondeo

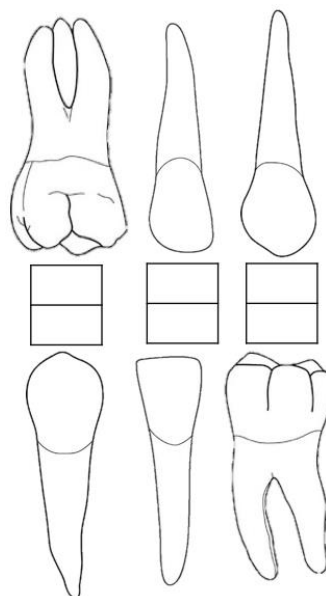
3= Inflamación severa, marcado enrojecimiento, edema y ulceraciones, tendencia a sangrado espontáneo

INICIAL



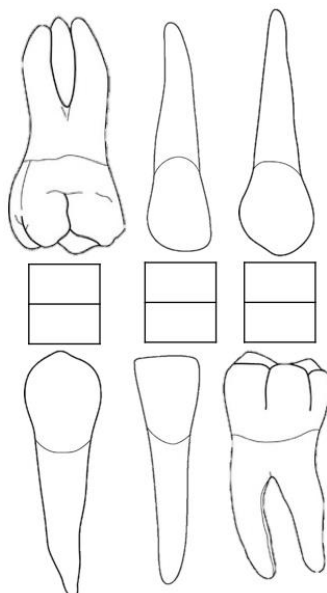
PROMEDIO: _____

4 HRS



PROMEDIO: _____

24 HRS



PROMEDIO: _____

Clave:

ANEXO VII. ÍNDICE DE PLACA O'LEARY

Este índice es utilizado para evaluar la higiene de las superficies lisas. Indica el porcentaje de superficies lisas teñidas sobre el total de superficies dentarias presentes.

$\frac{\text{Número total de sitios con placa} \times 100}{4 \times \text{Número de dientes presentes}} \times 100 = \text{_____} \%$

INICIAL

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

_____ x 100 = _____ %
4 x _____

4 HRS

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

_____ x 100 = _____ %
4 x _____

24 HRS

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

_____ x 100 = _____ %
4 x _____

Clave:

ANEXO VIII. FORMATO DE ÍNDICE DE PLACA

Descripción: _____ Fecha: _____

Nombre del paciente: _____

Código Nº _____ Firma del examinador dentista _____

DIENTES SUPERIORES

Diente # 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

V. Mesial

V. Medio

V. Distal

P. Mesial

P. Medio

P. Distal

SUMA PARCIAL

SUMA TOTAL

DIENTES INFERIORES

Diente # 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

V. Mesial

V. Medio

V. Distal

L. Mesial

L. Medio

L. Distal

SUMA PARCIAL

SUMA TOTAL

RESULTADO= _____ = _____ = ÍNDICE DE PLACA %

Clave:

ANEXO IX. FORMATO DE ÍNDICE INFLAMACIÓN LÖE SILNESS

Descripción: _____ Fecha: _____

Nombre del paciente: _____

Código Nº _____ Firma del examinador dentista _____

DIENTES SUPERIORES

	Inicial			4 h			24 h		
Diente #	1.6	1.2	2.4	1.6	1.2	2.4	1.6	1.2	2.4
V. Mesial									
V. Medio									
V. Distal									
P. Medio									

SUMA PARCIAL

SUMA TOTAL

DIENTES INFERIORES

	Inicial			4 h			24 h		
Diente #	3.6	3.2	4.4	3.6	3.2	4.4	3.6	3.2	4.4
V. Mesial									
V. Medio									
V. Distal									
L. Medio									

SUMA PARCIAL

SUMA TOTAL

RESULTADO= _____ = _____ = ÍNDICE GINVGIVAL %